

Technická Univerzita v Liberci

Fakulta mechatroniky a mezioborových inženýrských studií

Studijní program: 2612 M – Elektrotechnika a informatika
Studijní obor: 3902T005 – Automatické řízení a inženýrská informatika



MATEMATICKÉ MODEL Y FLUORESCENČNÍ EMISE ROSTLIN

MATHEMATICAL MODELS OF THE CHLOROPHYLL
FLUORESCENCE EMISSION OF THE PLANTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MAREK PAŠTALKA

VEDOUCÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE: Doc. Ing. Bedřich Janeček, CSc.
Odborný konzultant: RNDr. Ladislav Nedbal, CSc.

Liberec, 2005
TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

pro: **Marka Paštalku**

studijní program: M 2612 – Elektronika a informatika

obor: 3902T005 – Automatické řízení a inženýrská informatika

Vedoucí katedry Vám ve smyslu zákona o vysokých školách č.111/1998 Sb. Určuje tuto diplomovou práci:

Název tématu:

Matematické modely fluorescenční emise rostlin

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte základy fotosyntézy rostlin.
2. Seznamte se s modely fotosyntézy rostliny, které vycházejí z popisu základních biochemických reakcí diferenciálními rovnicemi.
3. Zpracujte graficky měření fluorescenční emise síníc, která byla provedena při různých průbězích a intenzitách osvětlení.
4. Prostudujte již navržený nelineární model fluorescenční emise rostlin, který byl navržen pro aproximaci měření při ozařování rostliny harmonickým světlem.
5. Navrhněte a ověřte model fluorescenční emise rostliny pro ozařování rostliny světlem se skokovými i harmonickými změnami intenzity.

Rozsah grafických prací: dle potřeby dokumentace

Rozsah průvodní zprávy: cca 35 až 45 stran

Seznam odborné literatury:

- [1] Lawlor D. W.: Photosynthesis: Molecular, Physiological and environmental processes. Longman Scientific, Cambridge 1993
- [2] Setlím I., Hála J.: Biofyzika fotosyntézy. Učební text BF JČU
- [3] Noskiewič P.: Modelování a identifikace systémů. Montanex a.s., 1999
- [4] Nedbal L., Březina V.: Komplex Metabolic Oscillations in Plants Forces by Harmonic Irradiance, Biophysical Journal, Volume 83, October 2002, 2180-3289
- [5] Lazár D., et al.: Mathematical Modeling of Changes in Chlorophyll Fluorescence Induction Cause by Herbicides, Jour.: Pesticide Biochemistry and Physiology 57, 1997, 200-210
- [6] Nedbal L., Matouš K., Březina V. Boško M., Janeček B.: Reverse Engineering of Plant Photosynthesis in Harmonically Modulated Light, 4-th International Conference on System Biology, St. Louis 2003

Vedoucí diplomové práce: Doc. Ing. Bedřich Janeček, CSc.

Konzultant: RNDr. Ladislav Nedbal, CSc., Akademické a univerzitní centrum, Nové Hradky

Zadání diplomové práce: 23. 10. 2003

Termín odevzdání diplomové práce: srpen 2005

V Liberci dne 23. 8. 2005

Anotace

V akademickém a univerzitním centru v Nových Hradech provádí měření, vyhodnocování a vytváření modelů biochemických pochodů v živých organismech. Vzhledem k jednoduchosti struktur se používají sinice a listy rostlin a stromů. Hlavním cílem je vytvoření modelu fotosyntézy, tedy přeměny CO_2 , H_2O a energie fotonů na molekuly kyslíku a cukry potřebné k vývinu rostliny.

Základní model, vytvořený v Nových Hradech, popisuje některé funkce rostliny jako schopnost regulovat příjem slunečního záření pomocí záporné zpětné vazby, vytváření cukrů z anorganických sloučenin, tzv. Calvinův cyklus nebo dopravní zpoždění při přenosu energie. Funkčnost modelu je ale omezena jen na několik stovek milisekund. Pro skokové změny vstupního záření a prodloužení doby korektní simulace modelu je do něho nutno zakomponovat nové poznatky o funkci rostliny.

Při ozáření harmonicky modulovaným zářením bylo zjištěno, že rostliny zpětně fluorescenčně emitují a to v závislosti na amplitudě a frekvenci vstupního harmonického záření. Signál fluorescenční emise se dá rozložit na signál se základní frekvencí vstupního harmonického signálu a na signály s celými násobky této základní frekvence, na tzv. vyšší harmonické. Právě tyto vyšší harmonické vznikají při zpětné regulaci fotosyntézy v buňkách rostliny a umožňují neinvazivní sledování dynamiky fotosyntézy. Analýza výstupního fluorescenčního signálu by měla pomoci při zakomponování nových struktur do stávajícího modelu. Vzhledem k mnoha nejasnostem ve vnitřních pochodech organismů a rostlin se jedná i o návrh vylepšení modelů tak, že se do nich přidají nové součásti, které řeší partikulární problémy, ovšem po návrhu je nutno je konzultovat s odborníky tak, aby bylo jasné, že daná struktura se dá v rostlině nalézt. Jedná se například o model RC obvodu, který má podobné vlastnosti jako Calvinův cyklus nebo přítomnost napětí na membráně listu.

Abstract

Research center in Nove Hradky maintain measuring, evaluating and creating models of biochemical processes in living organisms. Regarding to simplicity of structures leafs of plants and trees are being used. The main objective is to propose a model of photosynthesis, transformation of CO_2 , water and photonic energy into molecule of oxygen and glucose used to feed the plant.

The basic model, created at Nove Hradky, represents some functions of the plant such as the ability to regulate gain of energy from the sun using negative feedback, creating glucose of the inorganic compound, so called Calvin cycle, or transport delays along with the transportation of chemical energy. Functionality is limited to length of only a milliseconds and only for harmonic signal. For a step changes of input irradiance and to extend length of correct simulation of model it is necessary to include more information.

Exposing leafs to a harmonically modulated irradiance leads to a negative feedback fluorescence emission depending on amplitude and frequency of entering harmonic radiation. Signal of fluorescence emission can be deconvoluted to original input signal and upper harmonics. These upper harmonics appears within the negative feedback regulation process and make it possible to non-invasively measure dynamics of the process. Considering many unclarities inside the process, models are extended by adding new simulink branches to secure correct outputs from models. These could be models of RC circuit, which simulates the Calvin cycle or existence of potential on the membrane of the leaf. Then these advances must be approved by scientist to ensure it could be found in the plant itself.

Prohlášení

Byl (a) jsem seznámen (a) s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 o právu autorském, zejména § 60 (školní dílo).

Beru na vědomí, že TUL má právo na uzavření licenční smlouvy o užití mé DP a prohlašuji, že **s o u h l a s í m** s případným užitím mé diplomové práce (prodej, zapůjčení apod.).

Jsem si vědom (a) toho, že užít své diplomové práce či poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem TUL, která má právo ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, vynaložených universitou na vytvoření díla (až do jejich skutečné výše).

Diplomovou práci jsem vypracoval (a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

V Liberci dne 20. 8. 2005

Marek Paštalka

Poděkování:

Předně bych chtěl velice poděkovat vedoucímu mé diplomové práce docentu Bedřichu Janečkovi, bez jehož pomoci a cenných rad by tato práce jen těžce vznikala.

Dále mé rodině, která mi byla celou dobu nablízku, a také kamarádům, kteří mi pomáhali, když se práce nedařila.

Seznam použitých symbolů:

<i>PSI</i>	-	fotosystém 1
<i>PSII</i>	-	fotosystém 2
<i>NADP⁺</i>	-	nikotinamidadenindinukleotid – fosfátu
<i>ATP</i>	-	adenosintrifosfát
<i>ADP</i>	-	adenosindifosfát
<i>P700</i>	-	molekuly chlorofylu maximálně absorbující světlo o vlnové délce 700 nm
<i>P680</i>	-	molekuly chlorofylu maximálně absorbující světlo o vlnové délce 680 nm
<i>OEC</i>	-	komplex, ve kterém dochází k fotolýze vody
<i>Cyt b₆ / f</i>	-	cytochromový komplex pro přenos náboje mezi <i>PSI</i> a <i>PSII</i>
<i>Q_A, Q_B</i>	-	plastochinony, přenašeče náboje
<i>ATP – syntáza</i>	-	komplex polypeptidů pro tvorbu <i>ADP</i>
<i>Irr</i>	-	vstupní ozáření rostliny

Obsah:

<i>Anotace</i>	4
<i>Abstract</i>	5
1 Úvod	10
2 Fotosyntéza a fluorescence	11
2.1 Stavba hlavních funkčních celků v tylakoidní membráně.....	12
2.2 Průběh primárních procesů fotosyntézy	14
2.3 Sekundární procesy – asimilace oxidu uhličitého.....	16
2.4 Fluorescenční emise.....	16
3 Řízení a nelinearita	19
3.1 Regulace	19
3.2 Lineární a nelineární dynamické systémy.....	20
3.2.1 Lineární systémy	20
3.2.2 Nelineární systémy	21
4 Experimentální měření	22
5 Matematické modely	23
5.1 Základní model fluorescenční emise	24
5.2 Modifikovaný základní model fotosyntézy	25
5.3 Model fluorescenční emise dle L.Nedbala, D. Lazára a J.Červeného.....	29
5.4 Model s napět'ovou zpětnou vazbu	37
6 Závěr	47
7 Seznam použité literatury:	49

1 Úvod

Fotosyntéza je velmi důležitá reakce produkující pro nás nutný kyslík. Její podstata a dynamika ale stále není plně objasněna. Přesto byl v posledních letech uskutečněn průlom v pochopení jádra reakce, při které se rozpadá molekula vody na molekulu kyslíku a protony a elektrony potřebné pro další reakce za pomoci atomu zinku. Díky tomu v současné době probíhá výzkum umělé fotosyntézy a vedle ní se i stále vylepšují matematické modely přirozené reakce. V akademickém a univerzitním centru v Nových Hradech v Jižních Čechách se provádí měření fotosyntézy některých listů rostlin a sinic a také návrh modelů. K pochopení dynamiky procesů uvnitř buněk pomáhá i model fluorescenčního vyzařování, při kterém se rostlina částečně zbavuje nadbytečné energie.

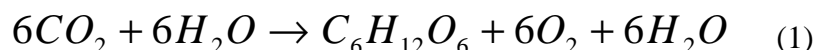
Při modelování s použitím harmonického vstupního signálu, sinu s pevnou amplitudou i frekvencí při jednom měření, byl výstupní signál podobný s měřením až na určité nedostatky v přítomnosti špiček a nelinearit, které se v měřeních neobjevují. Bohužel tento model již není spolehlivý pro měření při harmonických změnách amplitud a frekvence vstupního záření a skokových změnách intenzity vstupujícího signálu. Objevující se nelinearity jsou součtem vyšších harmonických objevujících se jako výsledek nelineární, zpětně záporné regulace fotosyntézy. Předkládaná diplomová práce si dává za cíl vylepšení stávajícího modelu za pomoci nových poznatků, tzn. navržením struktur se zpětnou vazbou, které by dokázaly simulovat průběh v závislosti na skokových změnách, ovšem tak, aby se daná modelovaná reakce dala nalézt i v reálném organismu.

2 Fotosyntéza a fluorescence

Naprostá většina rostlin získává veškerou energii pro své metabolické procesy z primárního energetického zdroje – slunečního záření, a veškerý uhlík z anorganické sloučeniny – oxidu uhličitého. Jsou to tedy fotoautotrofní organizmy. Díky těmto schopnostem mají klíčové postavení v celé biosféře, neboť ostatní (heterotrofní) biotické složky ekosystémů, včetně člověka pouze využívají energií bohaté organické látky vytvořené ostatními rostlinami.

Procesy vedoucí k vazbě oxidu uhličitého do organických sloučenin s využitím radiační energie označujeme jako fotosyntetickou asimilaci CO_2 , zkráceně hovoříme o fotosyntéze. Obecně lze fotosyntézu definovat jako souhrn procesů spojených s přeměnou energie fotonů do volné chemické energie, která je dále využita při biologických syntézách. Vzhledem k tomu, že v dalším textu se pracuje s modely fotosyntézy sinic a vyšších rostlin, je její proces podrobněji popsán pro oxygenní fotosyntézu, jež je jejich ústředním metabolickým procesem a při kterém je donorem vodíku voda.

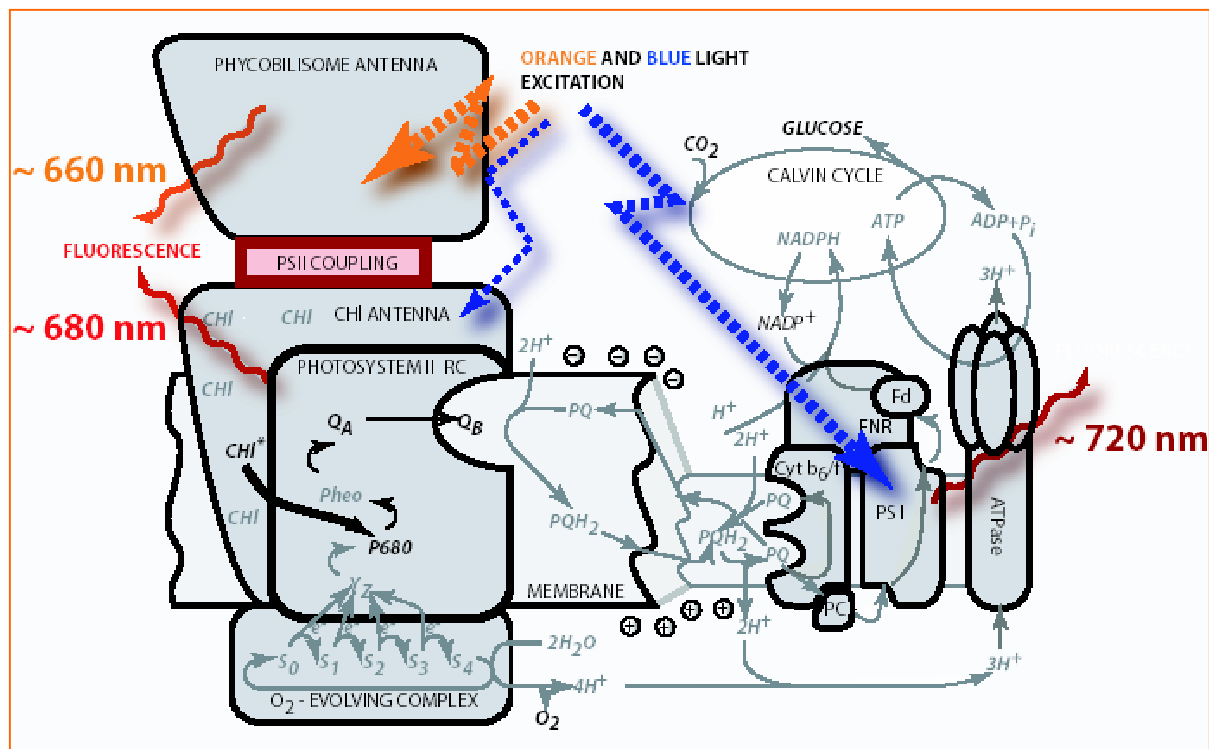
Oxygenní fotosyntézu můžeme popsat souhrnnou rovnicí:



Fotosyntéza ale není jediná reakce, ale soubor desítek dílčích reakcí, zahrnující:

- a) fyzikální procesy související s absorpcí záření v anténním systému a s rezonančním přenosem zachycené energie k reakčním centrům fotosystémů,
- b) primární fotochemické a redoxní procesy spojené s fotolýzou vody a s přenosem elektronů redoxními systémy k redukci $NADP^+$ (nikotinamidadenindinukleotid – fosfátu) a k energetické podpoře vzniku ATP (adenosintrifosfátu) z ADP (adenosindifosfátu). Tyto reakce probíhají za světla při dostatečném slunečním záření.

- c) sekundární biochemické reakce, ve kterých dochází k navázání CO_2 k akceptoru a pak jeho redukci vodíkem uvolněným při fotolýze vody, tedy k tvorbě vlastních organických sloučenin. Tyto reakce probíhají za tmy.



Obr. 1 Schéma biochemických reakcí uvnitř buňky

2.1 Stavba hlavních funkčních celků v tylakoidní membráně

Souhra všech reakcí spojených s fotosyntézou je možná pouze ve specializovaných strukturách chloroplastů, které také absorbují většinu záření dopadajícího na zelené orgány rostlin.

Chloroplasty jsou orgány s dvojitou povrchovou membránou a s dalším, vysoce specifickým vnitřním membránovým systémem, označeným jako tylakoidy. Skupinu těsně na sebe naléhajících tylakoidů nazýváme grannum. Prostor uvnitř tylakoidů se nazývá lumen.

Veškeré primární procesy fotosyntézy se odehrávají v tylakoidech, a to především v jejich membránách. Tyto membrány obsahují 60% – 65% bílkovin, na které se váže velké množství molekul asimilačních barviv (chlorofylů a karotenoidů).

Proteiny v tylakoidních membránách, s i bez navázaných pigmentů, se sdružují do organizovaných celků, jež spolu navzájem spolupracují. Rozdělují se do čtyř hlavních skupin: fotosystém I, fotosystém II, cytochromový komplex a *ATP – syntáza*.

Oba typy fotosystémů (I a II) se skládají z centrální části (reakční centrum), která je obklopena světlosběrným protein-pigmentovým systémem, označovaným jako anténa. Funkcí antény je pouze zachycovat a předávat excitační energii do reakčního centra, kde začíná vlastní přenos elektronů. Z asimilačních barviv, kterých bývá v každém z obou fotosystémů několik stovek molekul, je nevýznamnější *chlorofyl a*. V chloroplastech je ho největší množství (až tři čtvrtiny všech barviv), ale také má schopnost přejít do ionizovaného stavu (resp. předat elektron) po příjmu energie fotonu. *Chlorofyl b* se vyskytuje méně než *chlorofyl a* a má jen přídatnou funkci. Chlorofyly mají zelenou barvu, protože zelenou část viditelného spektra neabsorbují. Největší absorpci mají v oblasti 400–500 nm a 600–700 nm. Dalším barvivem jsou karotenoidy, hlavně *beta – karoten*, jež absorbují záření o vlnové délce kolem 400 nm.

Fotosystém I se nachází v částech membrán, jež komunikují přímo se stromatem, což je gelová výplň chloroplastu. Jádru fotosystému I obsahuje dva polypeptidy, které na sebe vážou ionizovatelnou molekulu chlorofylu a (označovanou jako *P700*, neboť absorbuje nejvíc záření o vlnové délce 700 nm). Anténní systém obsahuje asi 100 molekul *chlorofylu a* i *b*, které jsou vázány na několik integrálních proteinů.

Fotosystém II je lokalizován v granálních membránách tylakoidů. Jeho hlavní část, bez antény, je tvořena integrálními a periferními proteiny. Jádru tvoří dva integrální proteiny označované jako D1 a D2, na které je navázáno množství molekul *chlorofylu a*, včetně jedné ionizovatelné molekuly *P680*. Dále je v jádře fotosystému trvale přítomno několik molekul přenašečů elektronů (pheofytin, plastochinony Q_A a Q_B).

K fotosystému II patří i komplex, ve kterém dochází k fotolýze vody. Bývá označován jako OEC (Oxygen Evolving Center). Je tvořen třemi periferními proteiny, připojenými z vnitřní strany membrány tylakoidu. Na nich jsou navázány 4 ionty manganu a také ionty Cl^- a Ca^{++} .

Cytochromový komplex $Cyt\ b_6/f$ je složen obvykle ze čtyř integrálních proteinů. Jeho hlavní funkcí je zprostředkování transportu elektronů z fotosystému II na fotosystém I.

ATP – syntáza je rozmístěna vždy v blízkosti fotosystému I, tzn. jen ve volných tylakoidních membránách. Tvoří ji komplex devíti polypeptidů a její funkcí je tvorba *ATP* z *ADP* při transportu protonů.

2.2 Průběh primárních procesů fotosyntézy

Při dopadu kvant záření vlnové délky 350–700 nm na asimilační barviva v anténách, dojde v jejich molekulách k excitaci elektronů. Jeden foton přitom vždy excituje pouze jeden elektron v jedné molekule. Excitační energie může být jednak přeměněna na teplo či vyzářena ve formě fluorescenčního záření, anebo se může induktivní rezonancí postupně předávat dalším molekulám barviva a tak nakonec proniknout do reakčního centra k ionizovatelné molekule *P680*. Právě poslední možnost je podstatná pro fotosyntézu a také při ní převažuje.

V centrální části fotosystému II se z molekuly *P680* po přijetí excitační energie odštěpí elektron a přechází na první akceptor, kterým je pheofytin. Z něho je převeden na molekuly plastochinonů Q_A a Q_B , které jsou pevně vázané k proteinům D2 a D1. Fotosystém II pak elektrony opouští vázané na molekuly volně pohyblivých plastochinonů, kterých je v tylakoidní membráně dostatečné množství, a směřují k cytochromovým komplexům u PS I. Molekula *P680* je nyní bez jednoho elektronu, který předala molekule pheofytinu. Tento elektron si však doplní z OEC, konkrétně z molekuly tyrosinu Y_z , jenž ztrátou elektronů postupně zvyšuje potenciál pro oxidaci vody. Po čtvrtém zvýšení potenciálu je tento již dostatečně vysoký na to, aby se molekula vody rozpadla na protony, elektrony a kyslík O_2 . Elektrony se využijí pro doplnění stavu Y_z a tedy i *P680*. Protony zvýší rozdíl mezi elektrochemickými potenciály vnitřní a vnější strany tylakoidu na straně PS I.

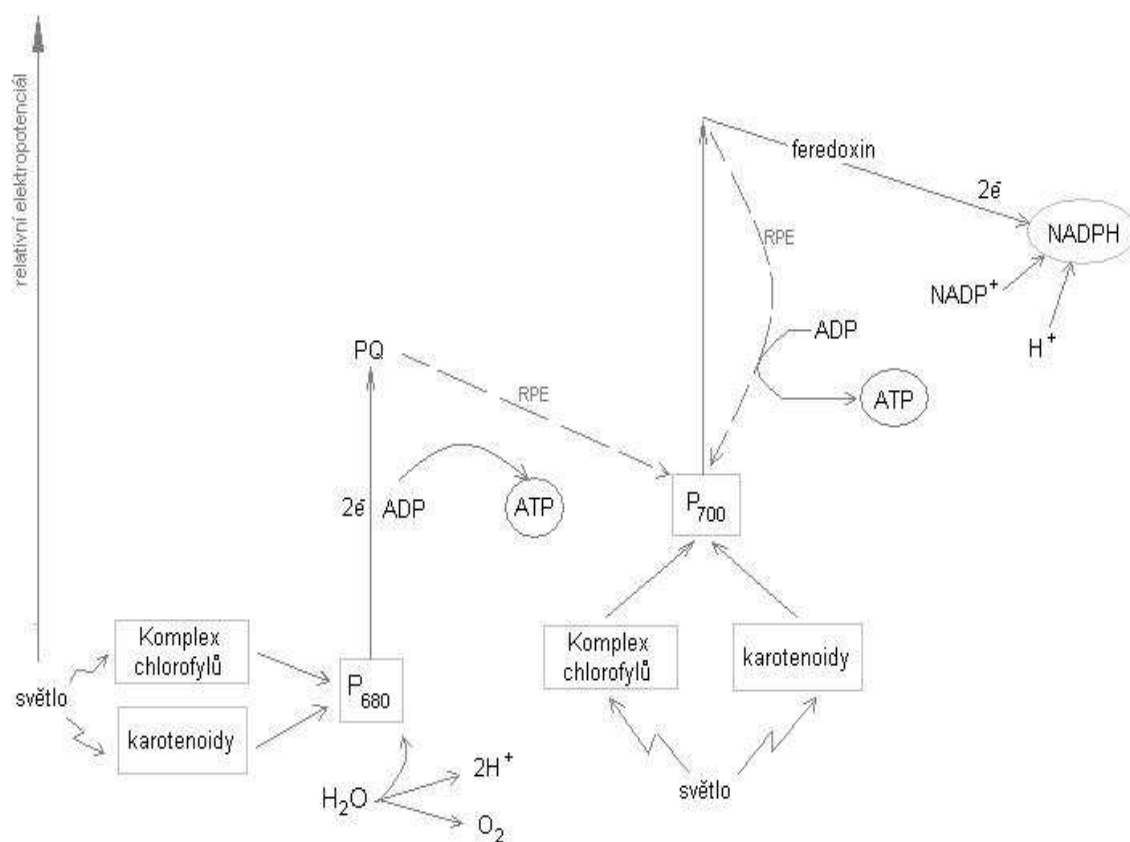
Redoxní výměny v cytochromovém centru končí u dalšího mobilního přenašeče elektronů, plastocyaninu, který se nachází na vnitřní straně membrány. Přenáší elektrony z cytochromového komplexu do centra PS I, kde probíhají další redoxní reakce, až nakonec dochází k přenosu elektronu na ferredoxin. Tento protein

je rozpustný a tedy pohyblivý – přenáší elektrony ke konečnému akceptoru v celém řetězci, k $NADP^+$, který je redukován na $NADPH$ přičemž jsou spotřebovány dva elektrony.

Celý popsany přenos elektronů z rozštěpené vody až na $NADP^+$ nazýváme necyklický elektronový transport. Kromě toho existuje ještě cyklický elektronový transport, který je mnohem kratší a není spojen s fotolýzou vody a nevytváří $NADP^+$. Tento cyklus slouží pro přesun vodíkových iontů ze stromatu do lumenu.

Popsanými procesy dochází k velkému nahromadění vodíkových iontů na straně lumenu tylakoidu. Vytvářená potenciální energie je využita ke tvorbě ATP a to při transportu H^+ z lumenu do stromatu ATP – syntázou. Ke tvorbě jedné molekuly ATP z ADP je nutný transport tří protonů.

Pohled na úrovně elektrických potenciálů při procesu fotosyntézy je na obr. 2.



Obr. 2 Energetické úrovně při průběhu fotosyntézy

2.3 Sekundární procesy – asimilace oxidu uhličitého

Na popsané primární procesy v tylakoidních membránách navazuje vlastní asimilace CO_2 do organických sloučenin. K tomu slouží celý komplex biochemických reakcí probíhajících ve stromatu chloroplastu. Reakce jsou spojeny do uzavřeného koloběhu, který se označuje jako fotosyntetický cyklus redukce uhlíku, nebo též Calvinův cyklus.

Calvinův cyklus lze rozdělit na tři etapy:

- karboxylace
- redukce
- regenerace

Všechny tři fáze spotřebovávají energii v podobě *NADPH* a *ATP* vytvořenou v primárních procesech. Výsledným produktem je glycerinaldehyd-3-fosfát, k jehož zisku se celý cyklus musí třikrát opakovat. Tato tříuhlíkatá molekula je dále využívána pro výživu a vývin organismu.

2.4 Fluorescenční emise

Největší část záření absorbovaného rostlinou je využito procesem fotosyntézy nebo přeměněno na teplo, ale malá část, maximálně několik procent vstupního záření, je vyzářena zpět v podobě fluorescenční emise *chlorofylu a*. Reakce fotosyntézy a fluorescenční emise sdílejí stejný zdroj excitované energie, proto čím větší energie je spotřebována na fotosyntézu, tím méně je jí k dispozici pro fluorescenční emisi. Vzhledem k tomu poskytuje měření chlorofylové fluorescence nástroj pro sledování procesů fluorescence a energetické regulace v rostlinách bez nutnosti vnitřního zásahu a též v reálném čase ([1], [2]).

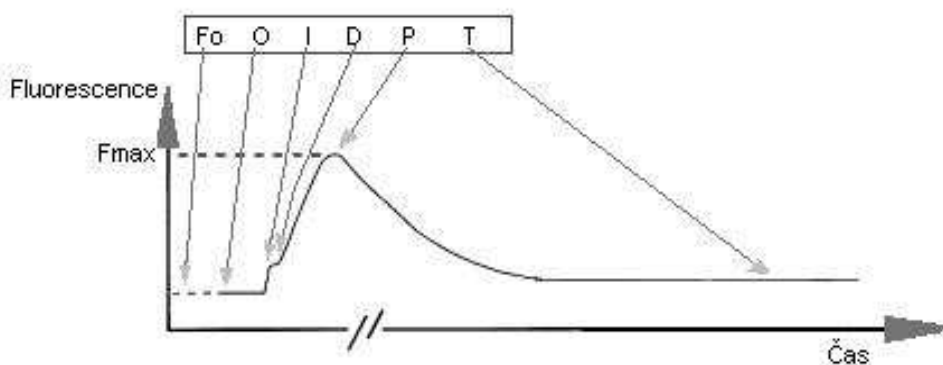
Nejrozšířenější metodou záznamu průběhu fluorescenčního záření je měření změn intenzity fluorescence při náhlém osvětlení rostliny poté co byla delší dobu umístěna v temném prostředí. Tato indukce fluorescence je známa jako Kautského efekt. Největší část fluorescenčního záření je emitována fotosystémem II

(PSII), který na rozdíl od fotosystému I (PSI) získává elektrony z vody. Po zapnutí světelného zdroje PSII přechodně redukuje akceptor elektronu, plastochinon Q_A , a tato redukce se projevuje zvýšenou fluorescencí. Kautského efekt je velice vhodný pro sledování fyziologických parametrů a stavů rostlin.

Kinetika přechodného uzavírání reakčních center fotosystému II, vzestup a následný pokles intenzity fluorescence závisí na několika strukturálních a funkčních vlastnostech rostliny. Například rychlost nárůstu fluorescenčního záření v průběhu uzavírání PSII center závisí na velikosti buněčné antény, protože frekvence redukce Q_A je závislá na intenzitě slunečního záření, a na množství chlorofylu v rostlině. Rychlost zvyšování fluorescence je též závislá na velikosti a redukčních schopnostech plastochinonového bazénu spojující PSI a PSII, protože tento bazén oxiduje akceptor Q_A .

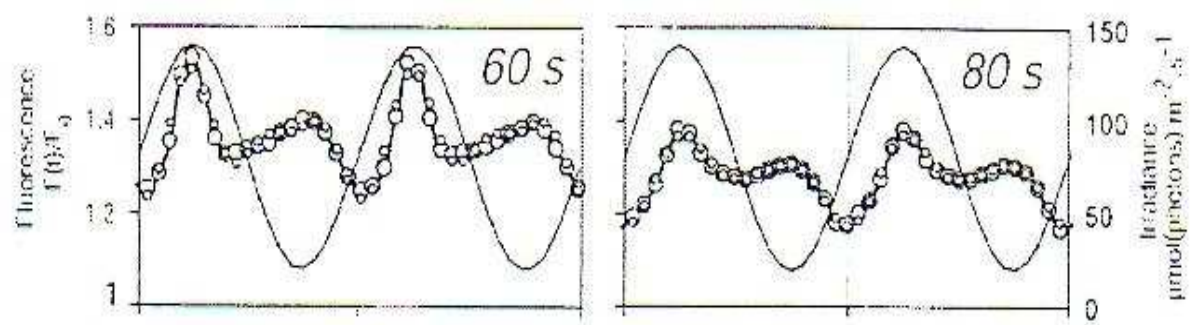
Dalšími faktory jsou efektivita elektronového přenosu mezi částmi PSII, stav komplexu fotolýzy vody (OEC), rychlost oxidace plastochinonů, apod.

Základní tvar křivky průběhu fluorescenčního záření v reakci na skokovou změnu vstupního záření je podobný u všech rostlin (Obr. 3). Sestává se z rychlého vzestupu na hodnotu F_0 , následným postupným vzestupem na hodnotu F_p a pomalým poklesem na finální hodnotu F_T .



Obr. 3 Průběh Kautského efektu

Při ozařování harmonicky modulovaným světlem je průběh výstupní fluorescence vidět na obr. 4.



Obr. 4 Průběh fluorescence při ozařování harmonickým světlem

3 Řízení a nelinearita

3.1 *Regulace*

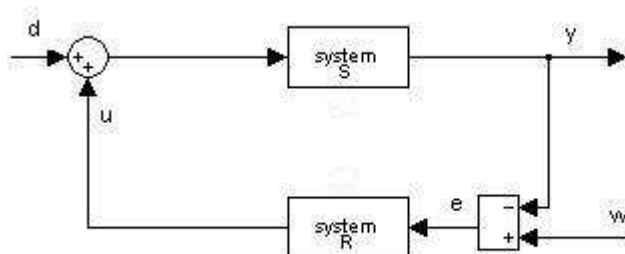
Řídící systémy mohou pracovat buď v otevřeném, nebo v uzavřeném obvodu regulace. Při regulaci v otevřeném obvodu se nezjišťuje skutečný stav, ve kterém se systém nachází, při řízení v uzavřených obvodech se systém reguluje podle jeho stavu proměnného v čase.

Základní schéma uzavřeného obvodu, konkrétně záporná zpětná vazba, je na obr. 5. Do řídicího systému R vstupuje odchylka hodnot řídicí veličiny w a výstupní veličinou z řízeného systému. Tato veličina e se nazývá regulační odchylka. Řídící systém pak akční veličinou reguluje systém S takovým způsobem, aby odchylku odstranil. Tímto způsobem je zajištěna eliminace vnějších i vnitřních případných poruch v systému, tedy jeho stabilita.

Existuje několik dalších typů zpětnovazebních smyček.

Například kladná zpětná vazba, jež řídí systém tak, že objeví-li se chyba v systému, způsobí další zvýšení odchylky. V případě nepřítomnosti záporné zpětné vazby tím může způsobit destabilizaci systému či jeho kolaps. Dále násobná zpětná vazba atd.

Robustnost a křehkost systému vyžaduje schopnost regulovat proces v případě různě velkých poruch vstupujících do soustavy.



Obr. 5 Regulace zápornou zpětnou vazbou

3.2 Lineární a nelineární dynamické systémy

Dynamické systémy vyjadřují chování systému v závislosti na čase. Toto chování je zpravidla popsáno soustavou diferenciálních rovnic.

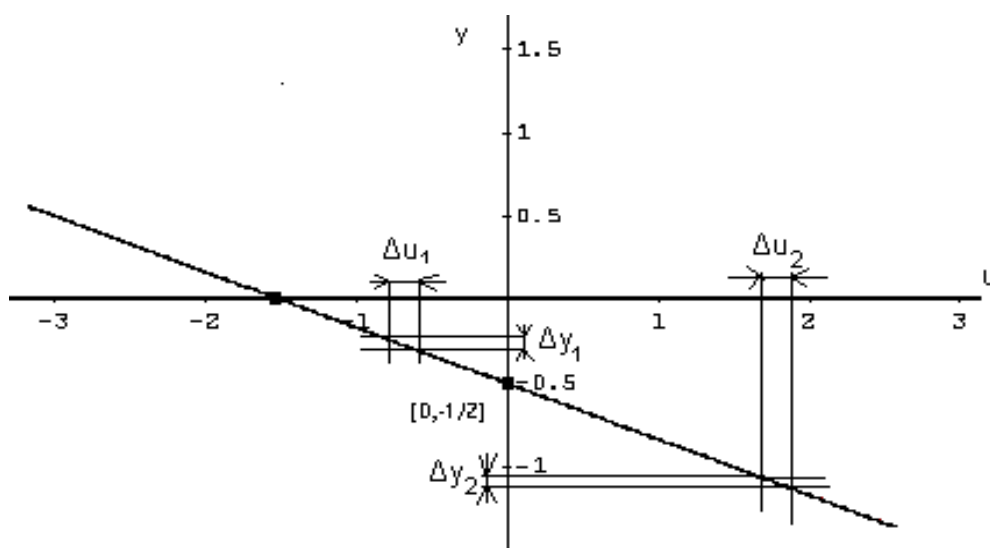
3.2.1 Lineární systémy

Lineární systém je takový systém, jehož výstupní funkce $F()$ splňuje následující rovnici superpozice (2) :

$$F(a.g(t) + b.h(t)) = a.F(g(t)) + b.F(h(t)) \quad (2)$$

Odezva systému na sumu vstupních signálů je roven součtu odezev na jednotlivé signály.

V celém rozsahu sledované závislosti ustáleného y (v našem případě výstupní veličina) na ustáleném u (veličina vstupující do systému) je poměr jejich diferencí konstantní ((2b) a obr. 6). Pomocí statické charakteristiky, tedy závislosti ustálené výstupní veličiny na ustálené vstupní veličině, můžeme určit chování takového systému podle rovnice (2b).



Obr. 6 – Lineární systém

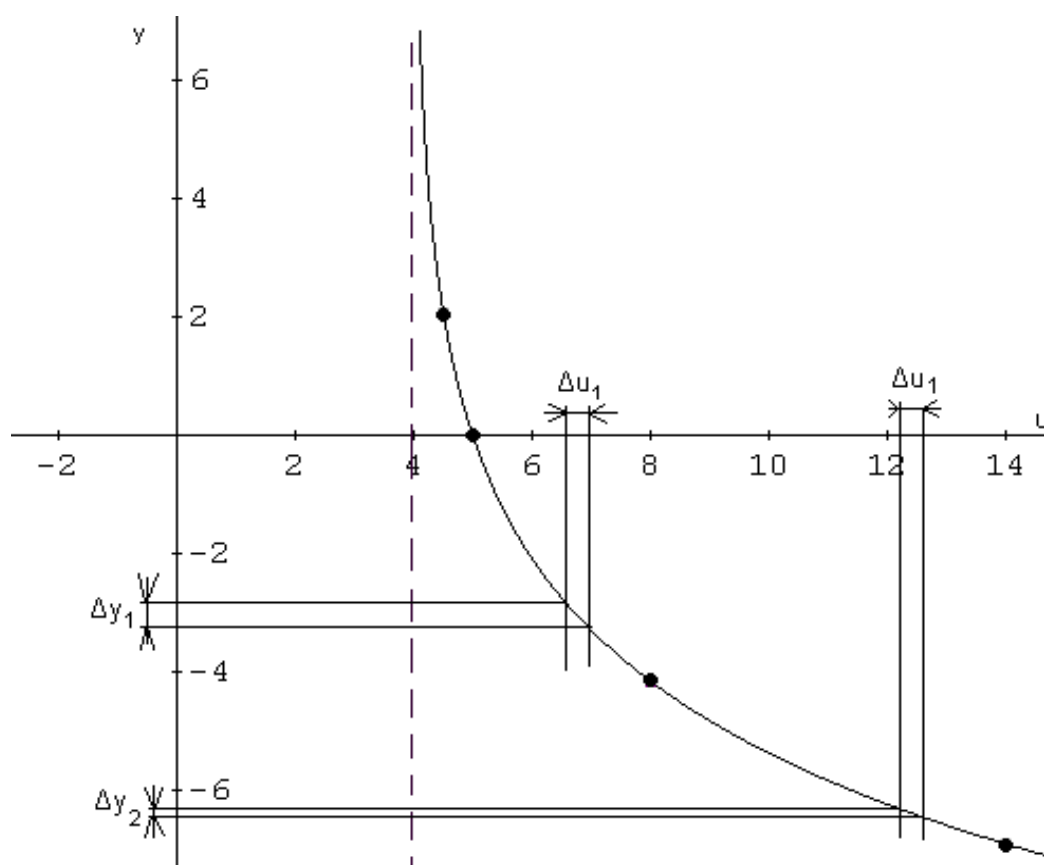
$$\frac{\Delta y_1(\infty)}{\Delta u_1(\infty)} = \frac{\Delta y_2(\infty)}{\Delta u_2(\infty)} = konst. \quad (2b)$$

3.2.2 Nelineární systémy

V nelineárním systému princip superpozice neplatí.

Existují různé typy nelinearity. Jedná se například o hysterezi, necitlivost a tření, relé nebo nasycení. Více informací v literatuře ([3]).

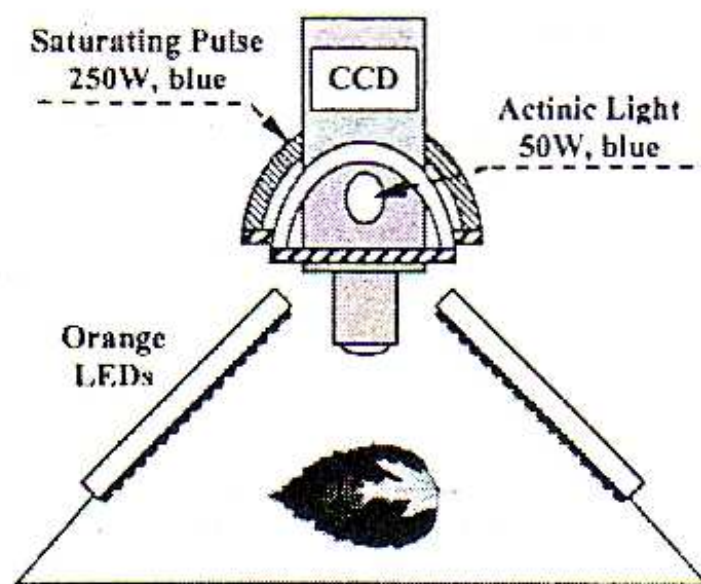
Rozlišujeme nelinearity, které se vyskytují nezávisle na námi sledovaných veličinách, a nelinearity, které jsou do systému uměle zavedeny.



Obr. 7 Nelineární systém

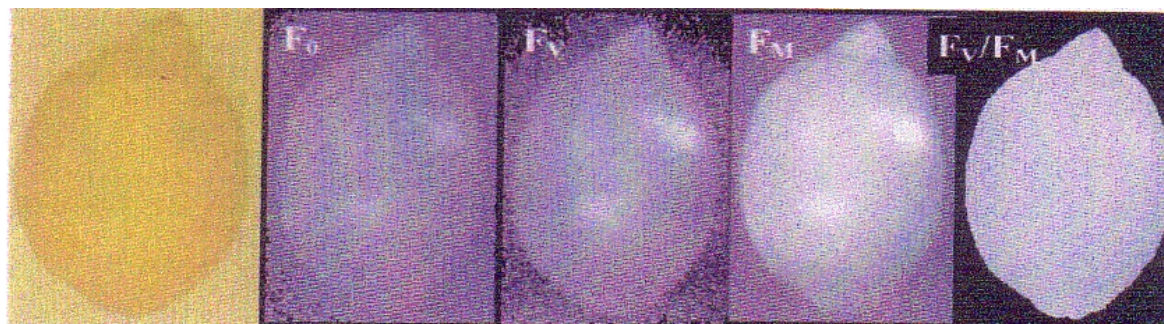
4 Experimentální měření

V akademickém a univerzitním centru v Nových Hradech se pro měření používá pracoviště, jehož struktura je uvedena na obr. 8. Pracoviště se skládá z CCD kamery, přičemž při snímání lze použít různé filtry pro záznam pouze určitých frekvencí měřeného záření, řídicí jednotky a pro generování žádaného osvětlení se používají svítivé LED diody a halogenové lampy.



Obr. 8 Zapojení měřícího zařízení

Snímají se různé fluorescenční parametry (základní F_0 , F_M maximální, F_V , F_V / F_M), jak je vidět na obr. 9.



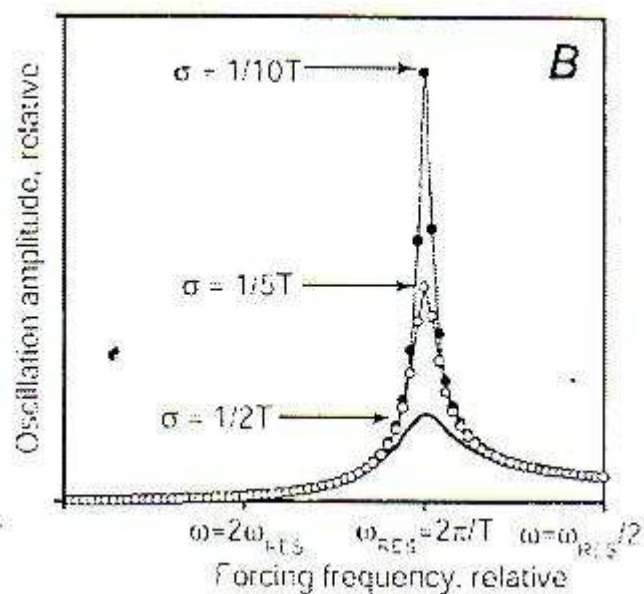
Obr. 9 Snímky různých druhů fluorescence

5 Matematické modely

Všechny matematické modely fluorescenční emise jsou založeny na popisu transportu elektronů fotosystémem PSII do plastochinonového bazénu – *PQPool*.

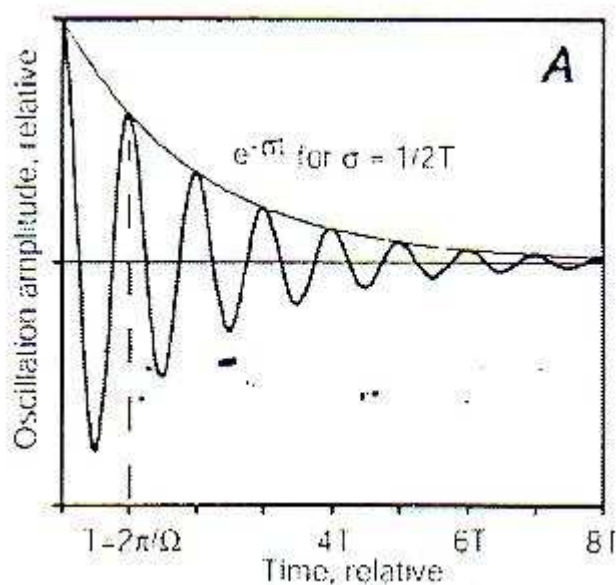
Z měření vycházejí pro model tři základní podmínky:

a) Na vstupu harmonický signál-> na výstupu nucené kmity



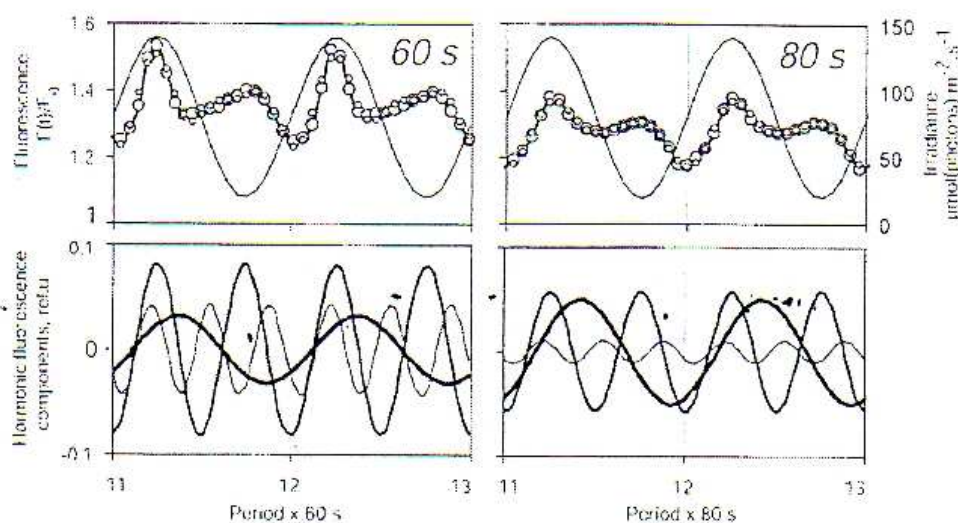
Obr. 10 Nucené kmity jako reakce na vstupní harmonický signál

b) Na vstupu skoková funkce-> na výstupu autonomní kmity



Obr. 11 Autonomní oscilace

c) Na vstupu harmonický signál-> na výstupu vyšší harmonické



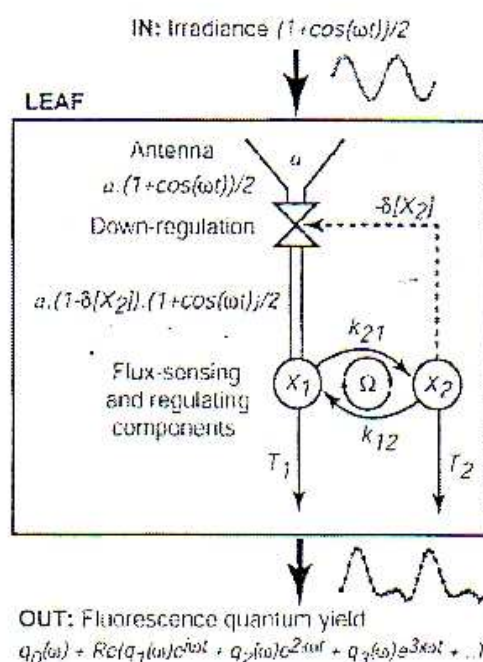
Obr. 12 Reakce na harmonický signál

Bylo zjištěno, že rostlina dokáže zpětně regulovat příjem fotonové energie dle změn intenzity osvětlení. Tato vlastnost dovoluje rostlině přechodně uzavřít svoje reakční centra tak, aby se v ní neakumulovalo více náboje, než by bylo pro rostlinu bezpečné. Modely popisují fázi fotosyntézy, při níž je prováděna oxidace plastochinonu Q_A oblastí zvanou PQPool, respektive akceptorem Q_B . Jak bylo výše popsáno, při tomto procesu vzniká velká část emise fluorescenčního záření jakožto dopad hromadění elektronů v PQPoolu.

5.1 Základní model fluorescenční emise

Schéma tohoto modelu je na obr. 13.

Složka X_1 je generována vstupujícím harmonickým zářením $(1 + \cos(\omega t))/2$ a velikostí antény a . Vstupní energii dále reguluje záporná zpětná vazba v závislosti na X_2 .



Obr. 13 Schéma základního modelu fotosyntézy

Kinematika daného procesu je dána soustavou diferenciálních rovnic (3,4)

$$\frac{dX_1}{dt} = -\frac{X_1}{T_1} + k_{12}X_2 + a(1 - \delta X_2)(1 + \cos(\omega t))/2 \quad (3)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{21}X_1 - \frac{X_2}{T_2} \quad (4).$$

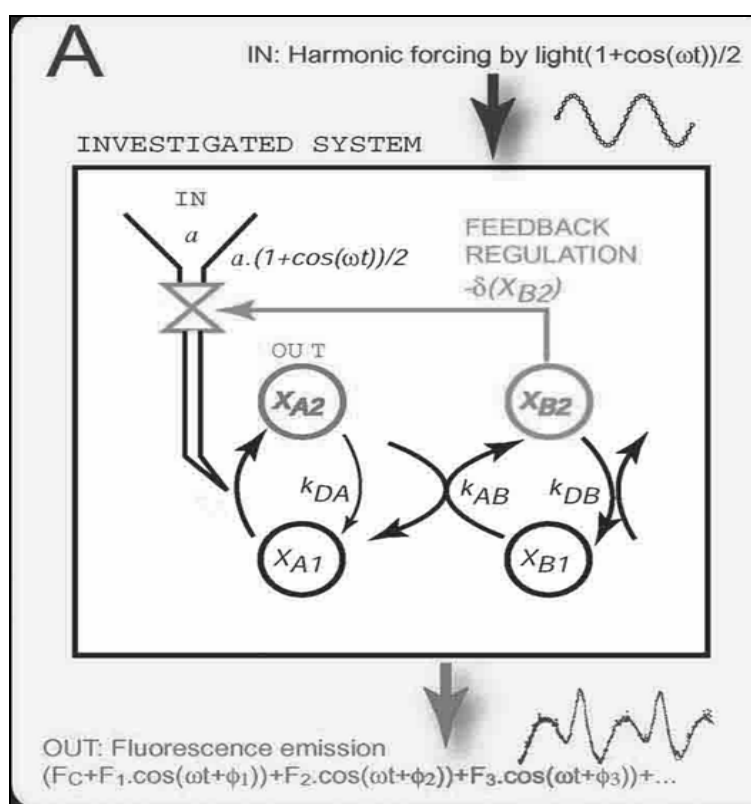
Takto navržený model popisuje pouze některé z nelineárních rysů fluorescenční emise, experimentální data obsahují mnohem výraznější nelinearity. Modifikace tohoto modelu s přesnějšími výsledky lze nalézt v literatuře ([11]).

5.2 Modifikovaný základní model fotosyntézy

Regulace je do modelu zavedena v podobě záporné zpětnovazební smyčky v závislosti na δ a X_{B2} .

Schematický popis tohoto modelu je na obr. 14.

List zde představuje černý rámeček. List je vystaven harmonicky modulovanému záření $I(t)$. Stavy X_{A1} a X_{A2} , respektive X_{B1} a X_{B2} představují koncentrace Q_A , respektive Q_A^- . Výstup systému je měřená chlorofylová fluorescenční emise. Změny koncentrací v jednom reaktantu jsou důvodem ke změně koncentrací alespoň jednoho z ostatních. Změny X_A, X_B lze následně popsat soustavou N diferenciálních rovnic, kde N je počet uvažovaných reaktantů. Reaktant X_A je proporcionální vstupní energii záření a také velikosti antény a . Energetický vstup je dále regulován zápornou zpětnou vazbou závislou na reaktantu X_B .



Obr. 14 Schéma částí modifikovaného modelu

Příslušné diferenciální rovnice jsou

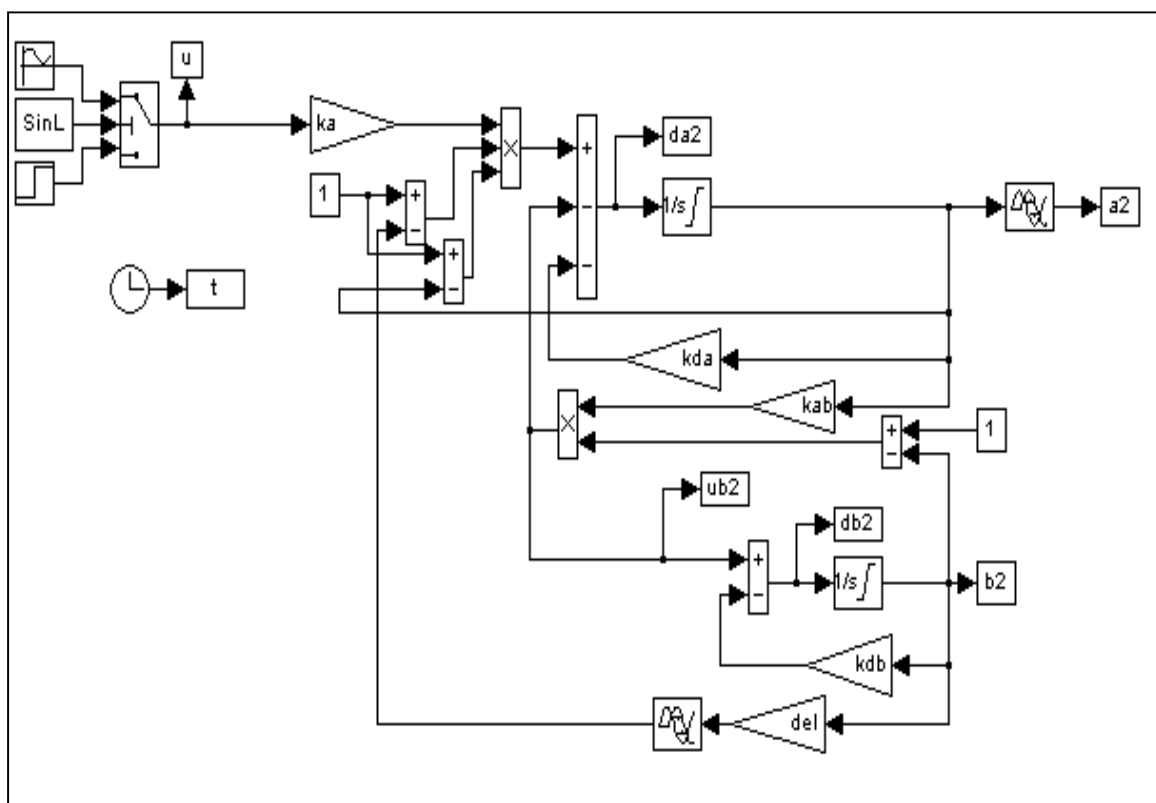
$$\frac{dX_{A2}}{dt} = I(t)(1 - \delta X_{B2})k_A X_{A1} - k_{DA} X_{A2} - k_{AB} X_{B1} X_{A2} \quad (5)$$

$$\frac{dX_{B2}}{dt} = k_{AB} X_{B1} X_{A2} - k_{DB} X_{B2} \quad (6)$$

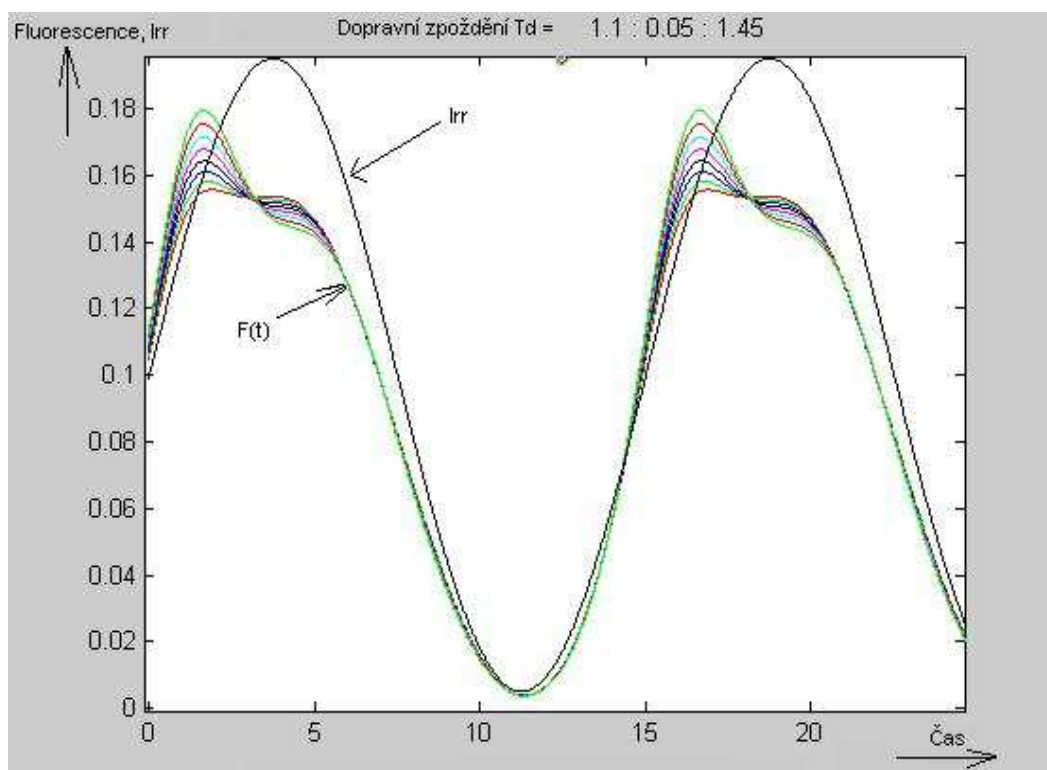
$$X_{A2} + X_{A1} = 1 \quad (7)$$

$$X_{B2} + X_{B1} = 1 \quad (8).$$

Konstanty $k_A, k_{AB}, k_{DA}, k_{DB}$ jsou určeny experimentálně. Poslední dvě rovnice představují zákon zachování hmotnosti reaktantů Q_A a Q_B . Model takto definovaných diferenciálních rovnic (5,6,7,8) v prostředí Matlab Simulink je zobrazen na obr. 15.



Obr. 15 Simulink schéma modifikovaného modelu

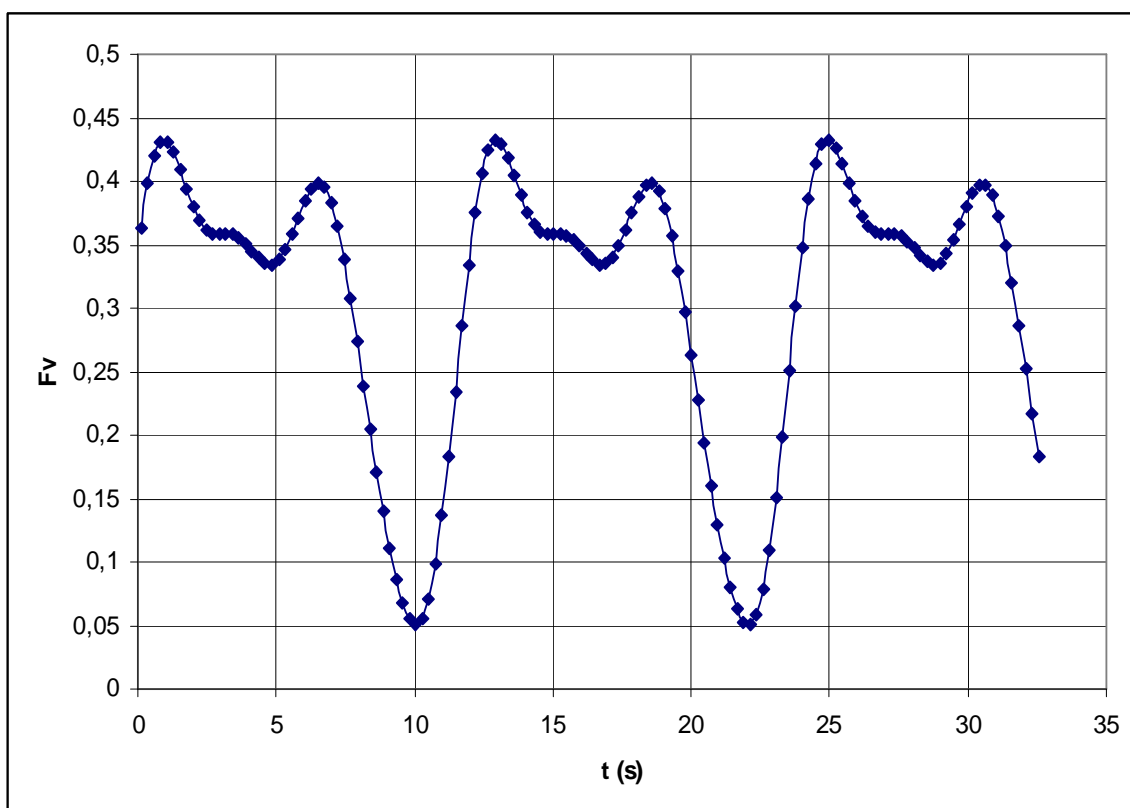


Obr. 16 Fluorescenční emise, modifikovaný model

Závislost intenzity fluorescenčního záření na čase při harmonickém buzení systému modelu X_{B2} je na obr. 16 měněna dle narůstajícího dopravního zpoždění v systému rostliny. To je postupně zvyšováno z 1 s až na 1.45 s. Je vidět, že s narůstajícím T_d je průběh výstupní fluorescence podobnější naměřeným datům. Ovšem příliš velké zpoždění by nemělo být realizovatelné v rostlině.

Naměřená data jsou vidět na obr. 17. Průběh fluorescenční emise se částečně daří simulovat na modelu, ovšem ne zcela korektně.

Modifikace tohoto modelu včetně jeho optimalizace je k nalezení v literatuře ([11]).



Obr. 17 Fluorometrem naměřené hodnoty F_v ; perioda $T = 12s$

5.3 Model fluorescenční emise dle L.Nedbala, D. Lazára a J.Červeného

Tento model obsahuje mnohem větší množství proměnných. Model je vytvořen za předpokladu, že intenzita fluorescenčního záření vyplývá z kinetiky jednotlivých komponent v PSII a z množství uzavřených reakčních center (tehdy, když je redukován Q_A). Redukční reakce jsou simulovány dle zákona zachování hmotnosti.

Protože časové konstanty k energetického toku mezi molekulami chlorofylu, oddělování a rekombinace náboje z primárního dárce náboje, tyrozinu Y_z , jsou mnohonásobně vyšší než časové konstanty při separování elektronu z OEC (Oxygen Evolving Center – fotolýza vody), jsou pro redukci Q_A , Q_{B-red} a $Q_{B-nonred}$ jako limitující faktor použity konstanty EOC.

Schéma modelu je na obr. 18.

$$\begin{aligned}
PQ: \quad \dot{y}_9 &= k_{17}y_1 - k_{23}y_2 + k_{24}y_{10} - (k_{25} + k_{16}y_{11} + k_{22}y_{12})y_9 \\
PQH_2: \quad \dot{y}_{10} &= k_{14}y_7 - k_{20}y_8 + k_{25}y_9 - (k_{24} + k_{15}y_{11} + k_{21}y_{12})y_{10} \\
Q_A R: \quad \dot{y}_{11} &= k_{17}y_1 - k_{14}y_7 - (k_{16}y_9 + k_{15}y_{10})y_{11} \\
Q_A^- R: \quad \dot{y}_{12} &= k_{23}y_2 - k_{20}y_8 - (k_{22}y_9 + k_{21}y_{10})y_{12} \\
Q_A N: \quad \dot{y}_{13} &= -k_6 y_{13} \\
Q_A^- N: \quad \dot{y}_{14} &= k_5 y_{13} \\
Q_A^- I: \quad \dot{y}_{15} &= 0 \quad \quad \quad (\text{soustava rovnic 9}).
\end{aligned}$$

Variabilní fluorescence je pak definována vztahem

$$F_V = \frac{(1-p)e'(t)}{1-pe'(t)} + y_{15} \quad (10)$$

kde

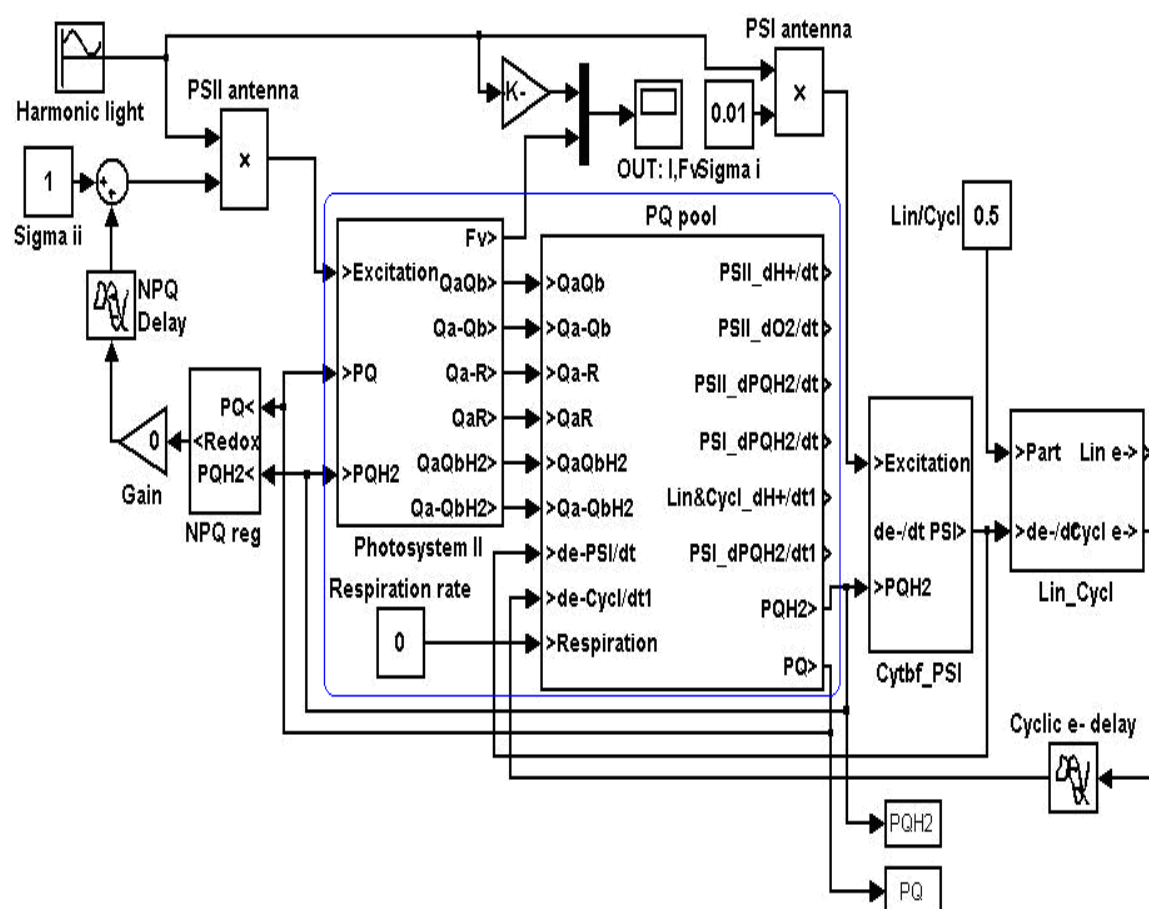
$$e'(t) = y_2 + y_4 + y_6 + y_8 + y_{12} \quad (11),$$

p je pravděpodobnost, že náboj může být přenesen z jednoho uzavřeného reakčního centra PSII do druhého.

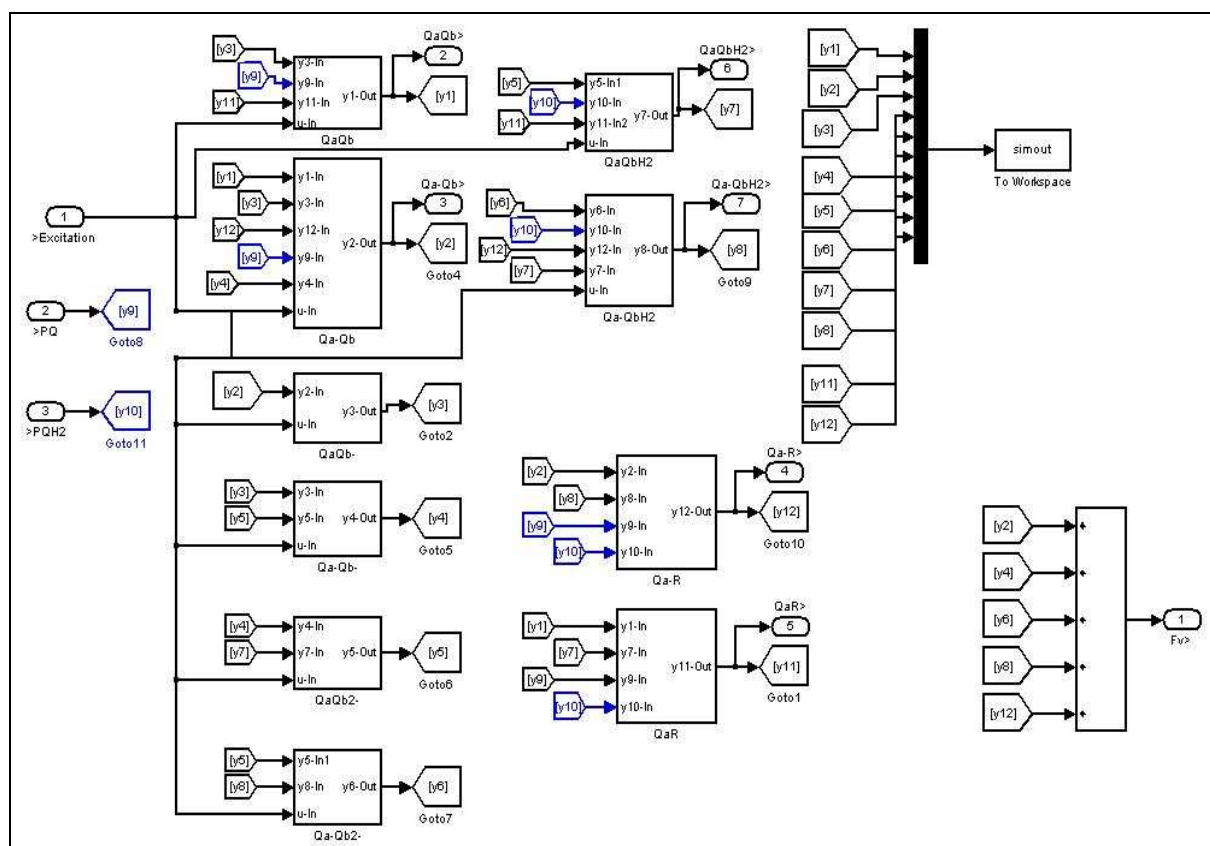
Reakce systému :		Hodnota konstant k_x
1. $Q_A Q_B$	$\rightarrow Q_A^- Q_B$	1666
2. $Q_A Q_B^-$	$\rightarrow Q_A^- Q_B^-$	1250
3. $Q_A Q_B^{2-}$	$\rightarrow Q_A^- Q_B^{2-}$	500
4. $Q_A Q_B H_2$	$\rightarrow Q_A^- Q_B H_2$	20.000
5. $Q_A N$	$\rightarrow Q_A^- N$	1666
6. $Q_A^- I$		—
7. $Q_A^- Q_B$	$\leftrightarrow Q_A Q_B^-$	3500/175
8. $Q_A^- Q_B^-$	$\leftrightarrow Q_A Q_B^{2-}$	1750/35
9. $Q_A Q_B^-$	$\rightarrow Q_A Q_B$	5000
10. $Q_A^- Q_B^-$	$\rightarrow Q_A^- Q_B$	5000
11. $Q_A Q_B^{2-}$	$\leftrightarrow Q_A Q_B H_2$	150/100
12. $Q_A Q_B H_2$	$\leftrightarrow PQH_2 + Q_A R$	150/100
13. $Q_A R + PQ$	$\leftrightarrow Q_A Q_B$	150/100
14. $Q_A^- Q_B^{2-}$	$\leftrightarrow Q_A^- Q_B H_2$	150/100
15. $Q_A^- Q_B H_2$	$\leftrightarrow PQH_2 + Q_A^- R$	150/100
16. $Q_A^- R + PQ$	$\leftrightarrow Q_A^- Q_B$	150/100
17. PQH_2	$\leftrightarrow PQ$	1/1

Tabulka 1. Hodnoty naměřených konstant k_x

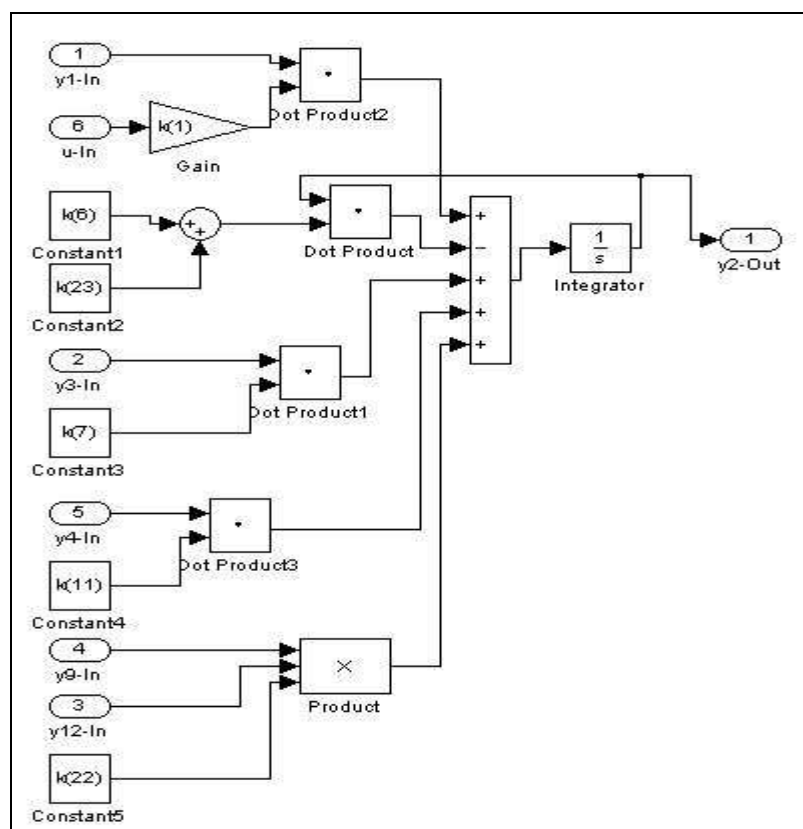
Tyto rovnice byly převedeny do prostředí Matlab. Schéma základního modelu, a následně i další schémata zapojení vnitřních bloků modelu, konkrétně realizace rovnic pro fotosystém II (PSII), plastochinonový bazén (PQPool) a jednotlivé partikulární rovnice reakcí dle soustavy (9), jsou vidět na následujících obrázcích.



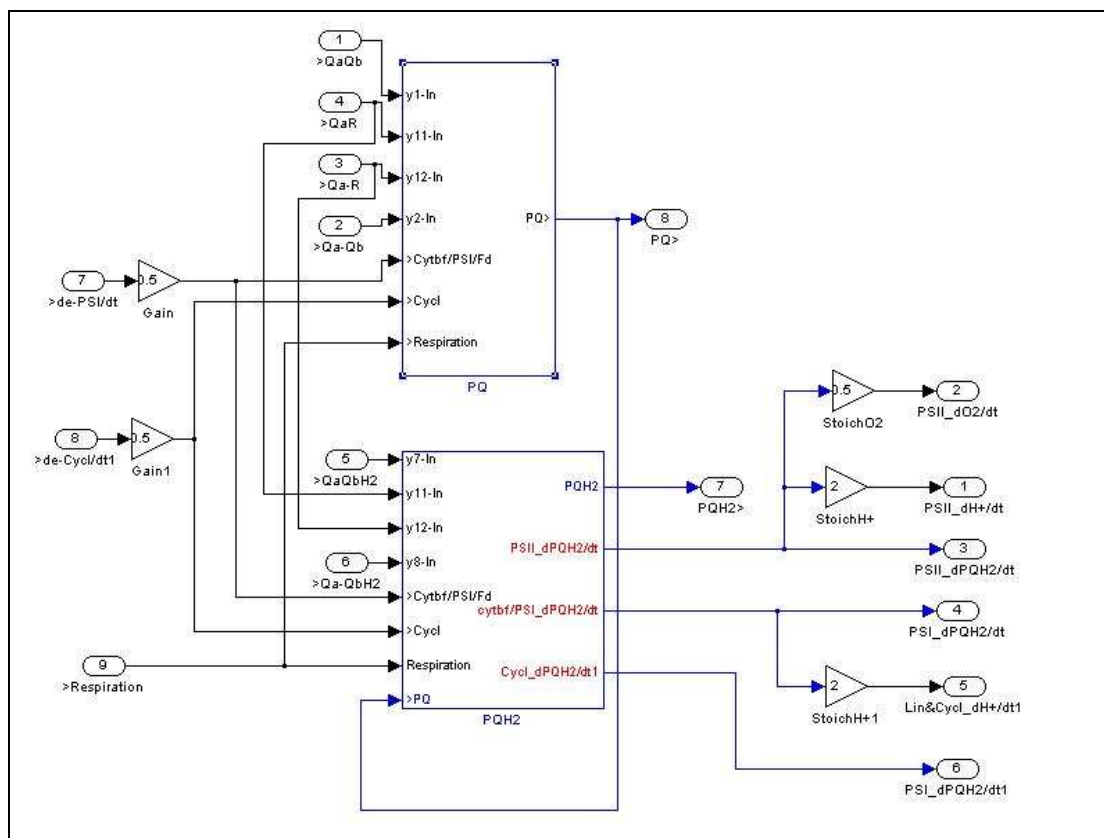
Modře vyznačená oblast (obr. 19) představuje zapojení soustavy rovnic (9). Bloky Cytbf_PSI a Lin_Cycl jsou popsány níže a představují modifikaci Lazárova modelu, jehož struktura je uvedena na obr. 18. V činnosti modelu z obr.19 má významnou funkci dopravní zpoždění, které je realizováno blokem Cyclic e- delay. Při periodě budicího signálu 21.66 s (kruhová frekvence 0.29 rad/s) bylo v tomto bloku voleno dopravní zpoždění $T_d = 7$ s.



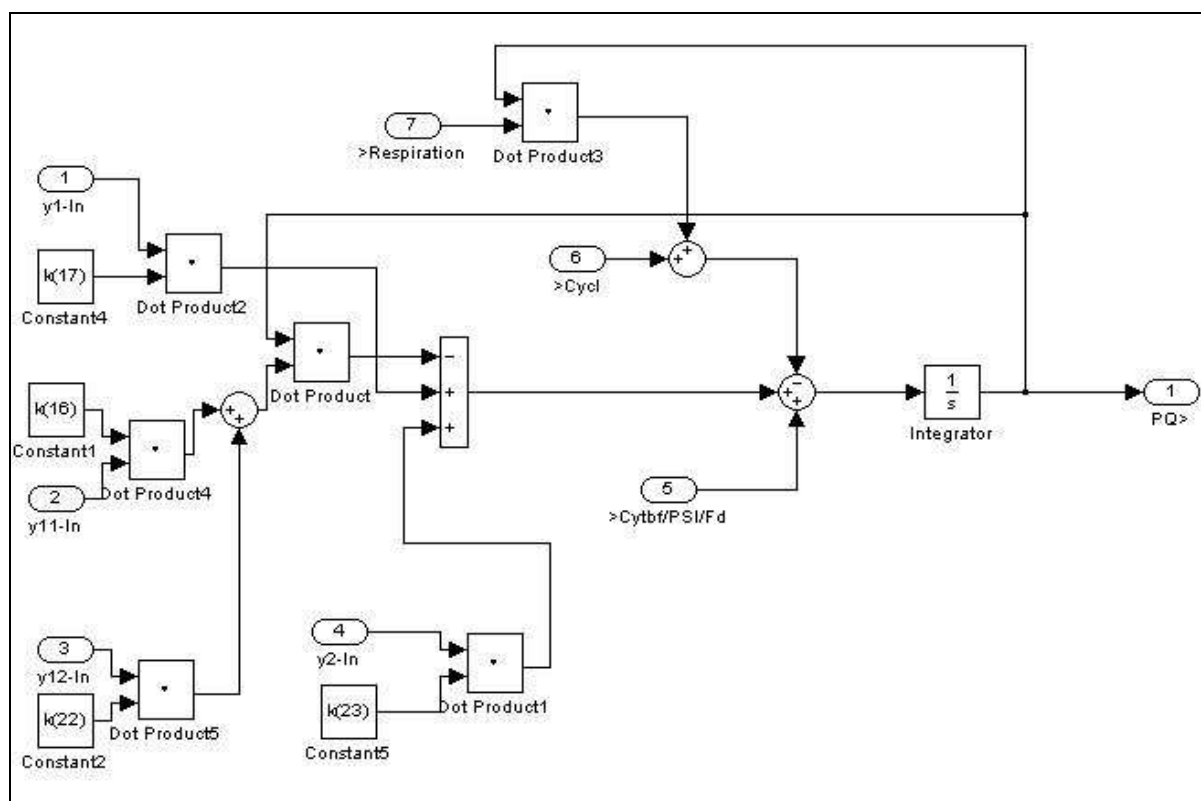
Obr. 20 Zapojení bloku PSII



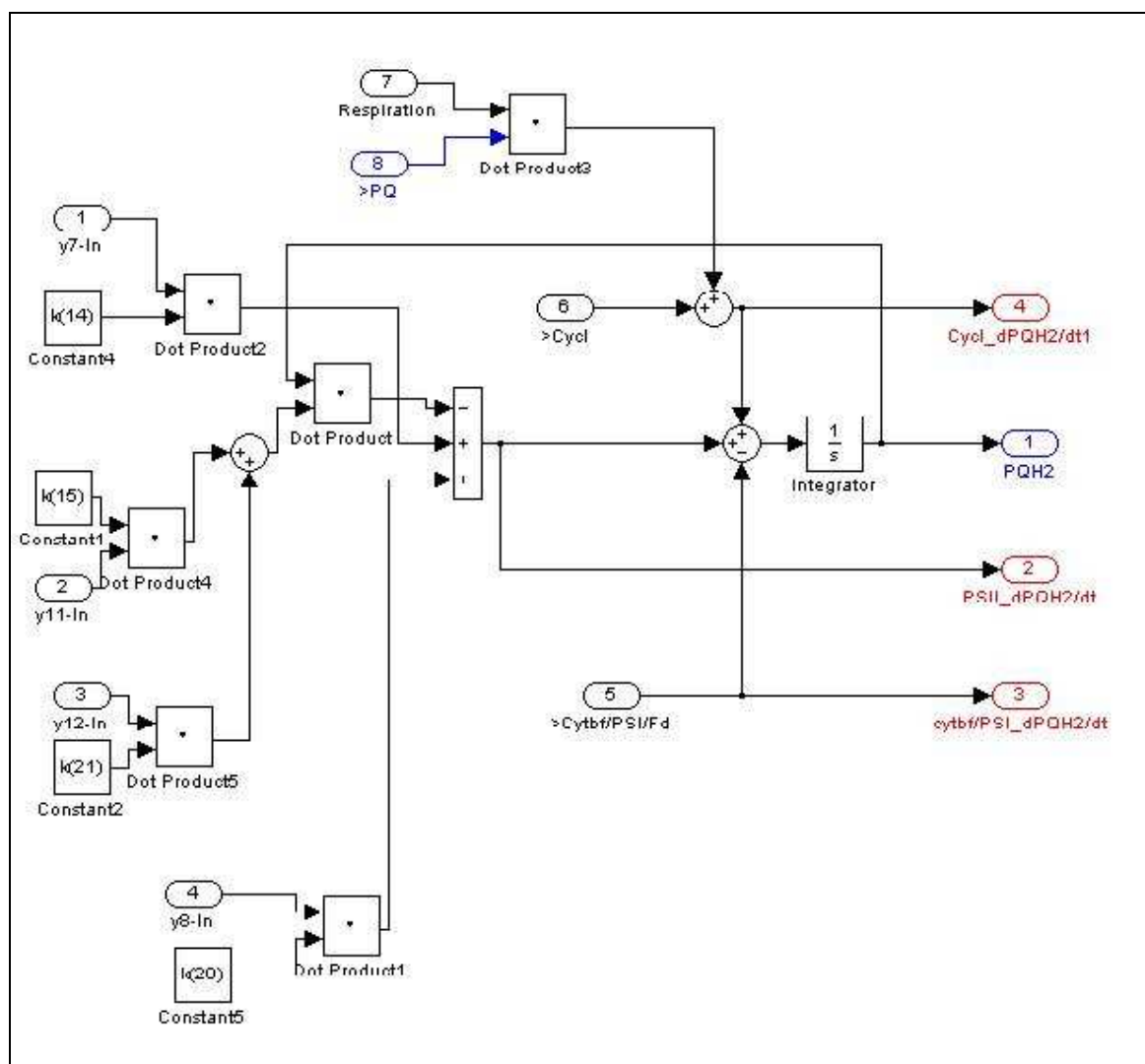
Obr. 21 Zapojení bloku Qa-Qb v PSII



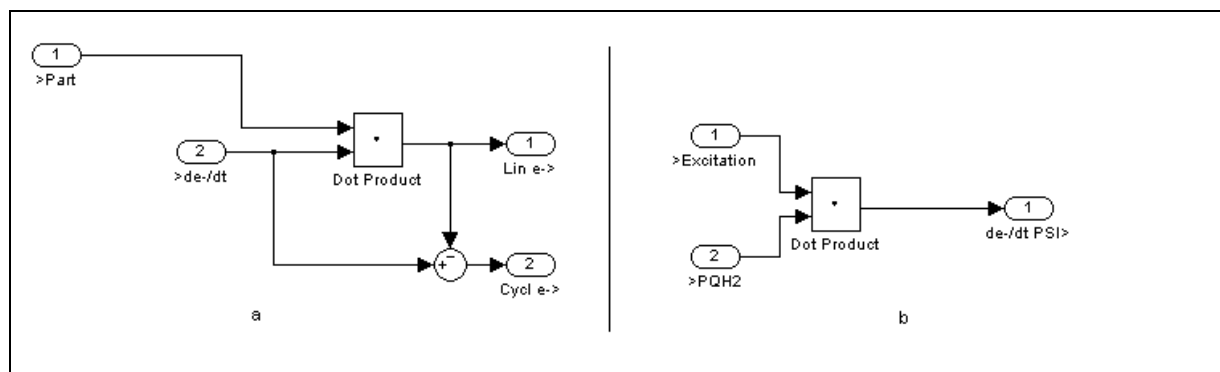
Obr. 22 Zapojení bloku PQPool dle diferenciálních rovnic (9)



Obr.23 Zapojení bloku PQ v PSII



Obr.24 Blok PQH2 v PSII



Obr. 25 Cyklus syntézy cukrů (b) a model cytochromového komplexu (a)

Obr. 25-b popisuje připojení cytochromového komplexu k PSI, a je popsáno rovnicí (11). Tato rovnice popisuje příjem fotonové energie systémem PSI.

Uveďme tyto rovnice i s hodnotami koeficientů, které byly v diskutovaném modelu použity.

$$cytbf = k_{PSI} Irr y_{10}, \quad k_{PSI} = 0.01 \quad . \quad (11)$$

Zapojení na obr. 25-a je popsáno rovnicí

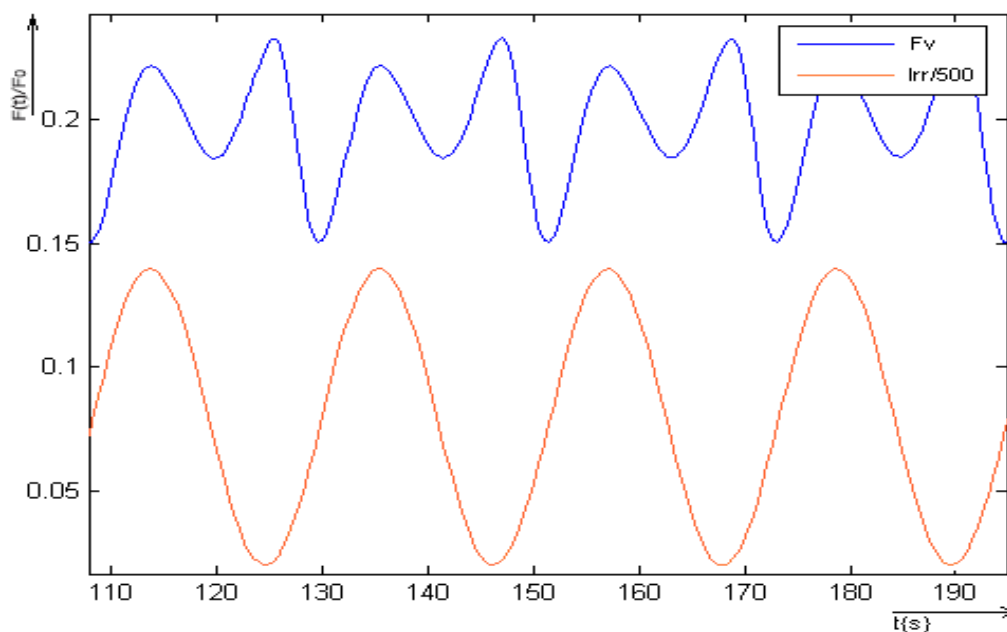
$$\begin{aligned} cycl &= -LinCycl cytbf + cytbf, & LinCycl &= 0.5, & \text{takže} \\ cycl &= 0.5 cytbf \quad . \end{aligned} \quad (12)$$

Rovnice \dot{y}_9, \dot{y}_{10} soustavy rovnic (9) jsou v modelu Nedbal-Lazár-Červený upraveny,

$$\dot{y}_9(t) = k_{17}y_1(t) - k_{23}y_2(t) + k_{24}y_{10}(t) - (k_{25} + k_{16}y_{11}(t) + k_{22}y_{12}(t))y_9(t) - 0.5 cycl(t - T_d) + 0.5 cytbf(t) \quad , \quad (13)$$

$$\dot{y}_{10}(t) = k_{14}y_7(t) - k_{20}y_8(t) + k_{25}y_9(t) - (k_{24} + k_{15}y_{11}(t) + k_{21}y_{12}(t))y_{10}(t) + 0.5 cycl(t - T_d) - 0.5 cytbf(t) \quad . \quad (14)$$

Závislost intenzity fluorescenčního záření na čase při harmonickém buzení systému je na obr. 26. Při porovnání s naměřenými hodnotami, viz obr. 17, je zřejmé, že model Nedbal-Lazár-Červený poměrně dobře popisuje fluorescenci rostliny při harmonickém buzení při zvolené periodě budícího signálu. Ve výstupu modelu je i druhé zvýšení intenzity fluorescence v průběhu jedné periody. Jestliže se frekvence budícího signálu mění, projevuje se nesouhlas s provedenými měřeními.



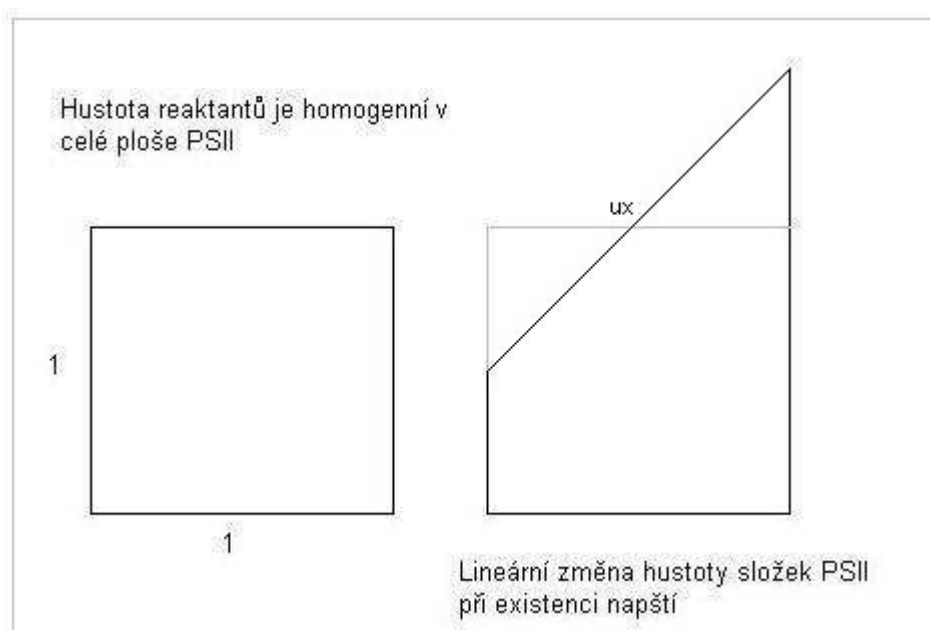
Obr. 26 Průběh fluorescenční emise a vstupního záření Irr v závislosti na čase

5.4 Model s napěťovou zpětnou vazbou

V modelu s napěťovou zpětnou vazbou je uvažováno ovlivňování rychlostí chemických reakcí v thylakoidní membráně rostliny vznikajícím a proměnným napěťovým spádem – elektrickým polem. Tento model vychází ze soustavy rovnic (9) – z Lazárova modelu.

Reaktant s nulovým potenciálem má v kolmém řezu membránou konstantní hustotu, viz. levá část obr. 27. Myšlená kolmice na membránu je na obr. 27 zobrazena vodorovnou osou, ve směru svislé osy je zobrazována koncentrace reaktantu ve směru příčného řezu. Předpokládáme, že reaktant s potenciálem jednoho elektronu při existenci vnějšího napětí u na membráně bude mít v kolmém řezu membránou lineární rozložení hustoty ux , jestliže souřadnici $x=0$ uvažujeme ve středu membrány, viz pravá část obr. 27. Obsahy ploch v levé a pravé části obr. 27 označíme S_1 a S_2 , $S_1 = S_2 = S = 1$. Diskutované plochy jsou též množstvím, případně pravděpodobností výskytu, uvažovaných reaktantů.

Reaktant s potenciálem dvou elektronů bude mít rozložení hustoty napříč membránou vyjádřeno funkcí $2ux$. Hustota reaktantu s potenciálem tří elektronů bude popsána funkcí $3ux$.



Obr. 27 Předpoklad modelu – rozložení hustoty reaktantů PSII

Přepíšeme první tři rovnice z Lazárova modelu:

$$\dot{y}_1 = -(k_1 Irr + k_{17}) y_1 + k_{10} y_3 + k_{16} y_9 y_{11}$$

$$\dot{y}_2 = k_1 y_1 Irr - (k_6 + k_{23}) y_2 + k_7 y_3 + k_{11} y_4 + k_{22} y_9 y_{12}$$

$$\dot{y}_3 = k_6 y_2 - (k_2 Irr + k_7 + k_{10}) y_3$$

V druhé rovnici koeficient k_1 ovlivňuje rychlost změny množství složky y_2 v závislosti na množství složky y_1 . Složka y_1 má nulový potenciál, složka y_2 má náboj jednoho elektronu. Hustoty rozložení těchto složek napříč thylakoidní membránou jsou na obr. 27. Označme diskutovanou reakci $ab \rightarrow a^-b$. Vypočtěme určitý integrál součinu hustot reaktantů y_1 a y_2 v mezích $-\frac{1}{2}, \frac{1}{2}$. Integrál počítáme přes normalizovaný řez membránou.

$$k_{u01} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} 1 (ux + 1) dx = \left(u \frac{x^2}{2} + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = 1 .$$

Diskutovaný koeficient k_1 nebude rozložením složek y_1 a y_2 , ovlivněn.

V třetí rovnici Lazárova modelu koeficient k_6 ovlivňuje rychlost změny množství složky y_3 v závislosti na množství složky y_2 . Obě složky mají hustoty reaktantů napříč membránou vyjádřeny lineární rovnicí $u x + 1$. Označme tuto reakci $\boxed{a^-b} \rightarrow \boxed{ab^-}$. Integrál součinu hustot reaktantů y_2 a y_3 přes řez membránou je

$$k_{u11} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (ux + 1)^2 dx = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (u^2 x^2 + 2ux + 1) dx = \left(u^2 \frac{x^3}{3} + 2u \frac{x^2}{2} + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = \frac{u^2}{12} + 1 .$$

V modelu s napěťovou zpětnou vazbou bude místo konstantního koeficientu k_6 použit koeficient proměnný. Tento koeficient bude závislý na napětí na membráně, v Lazárově modelu místo koeficientu k_6 použijeme

$$k_6 \left(\frac{u^2}{12} + 1 \right) .$$

Obdobně budou závislé na napětí na membráně koeficienty k_7 a k_{20} . Tyto koeficienty se vyskytují v rovnicích, které popisují reakce $Q_{A-}Q_{B-} \rightarrow Q_{A-}Q_{B-}$, $Q_{A-}Q_{B-}H_2 \rightarrow Q_{A-}R$. V těchto reakcích se vyskytují 2 nabitě částice.

Uvedme rovnice napěťového ovlivňování koeficientů v reakcích, kde se vyskytují více než dvě nabitě částice.

V případě reakcí $\boxed{ab^-} \rightarrow \boxed{a^-b^-}$ je integrál přes kolmý řez membránou

$$k_{u12} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (ux+1)(2ux+1) dx = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (2u^2x^2 + 3ux + 1) dx = \left(2u^2 \frac{x^3}{3} + 3u \frac{x^2}{2} + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = \frac{u^2}{6} + 1.$$

Kvadratickou funkcí $\frac{u^2}{6} + 1$ v modelu s napěťovou zpětnou vazbou jsou násobeny koeficienty k_2 a k_{11} .

Reakce $\boxed{ab^{2-}} \rightarrow \boxed{a^-b^{2-}}$

$$k_{u13} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (2ux+1)(3ux+1) dx = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (6u^2x^2 + 5ux + 1) dx = \left(6u^2 \frac{x^3}{3} + 5u \frac{x^2}{2} + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = \frac{u^2}{2} + 1,$$

kvadratickou funkcí $\frac{u^2}{2} + 1$ v modelu s napěťovou zpětnou vazbou je násoben koeficient k_3 .

Reakce $\boxed{a^-b^-} \rightarrow \boxed{ab^{2-}}$

$$k_{u22} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (2ux+1)^2 dx = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (4u^2x^2 + 4ux + 1) dx = \left(\frac{4}{3}u^2x^3 + 2ux^2 + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = \frac{u^2}{3} + 1,$$

kvadratickou funkcí $\frac{u^2}{3} + 1$ v modelu s napěťovou zpětnou vazbou jsou násobeny koeficienty k_8 , k_9 .

Reakce $\boxed{a^-b^{2-}} \rightarrow \boxed{a^-bH^2}$

$$k_{u13} = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (ux+1)(3ux+1) dx = \int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} (3u^2x^2 + 4ux + 1) dx = \left(u^2x^3 + 2ux^2 + x \right) \Big|_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} = \frac{u^2}{4} + 1,$$

kvadratickou funkcí $\frac{u^2}{4} + 1$ v modelu s napětovou zpětnou vazbou je násoben

koeficient k_{18} .

V Lazárových rovnicích (9) je terminologický nedostatek, neboť reaktant Q_A je totožný s reaktantem PQ . Zákon zachování reaktantu Q_A , při jeho různém nabití je vyjádřen skutečností, že součet pravých stran rovnic 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11 a 12 je nulový. Této skutečnosti je využito k numerické stabilizaci výpočtu, dvanáctá rovnice ze soustavy (9) se v numerickém modelu nepočítá. Stavová veličina y_{12} se vypočítává z uvedeného zákona zachování reaktantu Q_A ,

$$y_{12}(t) = -y_1(t) - y_2(t) - y_3(t) - y_4(t) - y_5(t) - y_6(t) - y_7(t) - y_8(t) - y_{11}(t). \quad (15)$$

Obdobně je možno popsat zákon zachování reaktantu Q_B . Součet pravých stran rovnic 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 a 10 ze soustavy rovnic (9) je nulový. Takže v numerickém modelu je opět z důvodu numerické stabilizace použito přiřazení

$$y_9(t) = -y_1(t) - y_2(t) - y_3(t) - y_4(t) - y_5(t) - y_6(t) - y_7(t) - y_8(t) - y_{10}(t). \quad (16)$$

Na obr. 28 je uvedeno schéma struktury diferenciálních rovnic Lazárova modelu. Soustava rovnic (9) popisuje reakce mezi dvěma a i mezi třemi složkami. Obr. 28 vizualizuje reakce mezi jednotlivými složkami, které jsou jednotlivými součtovými členy rovnic (9).

Zjednodušený model tvorby napětí na thylakoidní membráně předpokládá, že napětí na membráně je úměrné rychlosti vstupu kladných iontů vodíku do membrány. Složky $y_7(t)$, $y_8(t)$ a $y_{10}(t)$ obsahují vodík, viz (9). Pouze složky $y_7(t)$ a $y_8(t)$ reagují se složkami, které vodík neobsahují. Jedná se o dvě reakce. Jedna z

těchto reakcí je v rovnici 7, viz soustava rovnic (9), popsaná členem $k_{12} y_5(t)$, druhá z těchto reakcí je popsána členem $k_{18} y_6(t)$. V navrženém modelu tvorby napětí na membráně je součet těchto signálů přiveden na dynamickou soustavu prvního řádu se zkusmo nastavenými parametry: zesílením a časovou konstantou. Pak při použití Laplaceovy transformace je model tvorby napětí na thylakoidní membráně

$$U = \frac{k_U}{\tau s + 1} (k_{12} Y_5 + k_{18} Y_6), \quad s \text{ je Laplaceův operátor.} \quad (17)$$

Výpočet je realizován dalším schématem simulinku (Obr. 29), využívajícího S-function a hlavní program. Kód S-Function:

```
function [sys, x0, str, ts]=fPS2pQ16(t, x, u, flag);
global ypoc k Sigma1 x12;
switch flag,
case 0
    sizes = simsizes;
    sizes.NumContStates = 11;
    sizes.NumDiscStates = 0;
    sizes.NumOutputs = 11;
    sizes.NumInputs = 2;
    sizes.DirFeedthrough = 0;
    sizes.NumSampleTimes = 1;
    sys = simsizes(sizes);
    x0 = ypoc;
    x9=0;
    x12=0;
    str = [];
    ts = [0 0];
case 1
    U=u(2);
    U2=U*U;
    w=1+U2/12; k6=k(6)*w; k7=k(7)*w; k20=k(20)*w; k21=k(21); k23=k(23); %11
    w=1+U2/6; k2=k(2)*w; k11=k(11)*w; %12
    w=1+U2/3; k8=k(8)*w; k9=k(9)*w; %22
    w=1+U2/2; k3=k(3)*w; %23
    w=1+U2/4; k18=k(18)*w; %13
    k20_=k(20); k23_=k(23); %v y(9)
    k1=k(1); k2=k(2); k3=k(3); k10=k(10); k16=k(16); k17=k(17);
    x9=ypoc(1)+ypoc(9)-x(1)-x(2)-x(3)-x(4)-x(5)-x(6)-x(7)-x(8)-x(10);
    x12=ypoc(1)-x(1)-x(2)-x(3)-x(4)-x(5)-x(6)-x(7)-x(8)-x(11);
    xx=[-(k1*u(1)+k17)*x(1)+k10*x(3)+k16*x9*x(11) %1
        k(1)*u(1)*x(1)-(k6+k23)*x(2)+k7*x(3)+k11*x(4)+k(22)*x9*x12 %2
        k6*x(2)-(k2*u(1)+k7+k(10))*x(3) %3
```

```

k2*u(1)*x(3)-(k8+k11)*x(4)+k9*x(5) %4
k8*x(4)-(k3*u(1)+k9+k(12))*x(5)+k(13)*x(7) %5
k3*u(1)*x(5)-k18*x(6)+k(19)*x(8) %6
k(12)*x(5)-(k(4)*u(1)+k(13)+k(14))*x(7)+k(15)*x(10)*x(11) %7
k18*x(6)+k(4)*u(1)*x(7)-(k(19)+k20)*x(8)+k21*x(10)*x12 %8
0 %9
k(14)*x(7)+k20_*x(8)+k(25)*x9-(k(24)+k(15)*x(11)+k(21)*x12)*x(10) %10
k(17)*x(1)+k(14)*x(7)-(k(16)*x9+k(15)*x(10))*x(11) ]; %11
sys=xx;
case 3
    sys = x;
case { 2, 4, 9 }
    sys = [];
otherwise
    error(['Unhandled flag = ',num2str(flag)]); % Error handling
end
%-----

```

Kód hlavního programu:

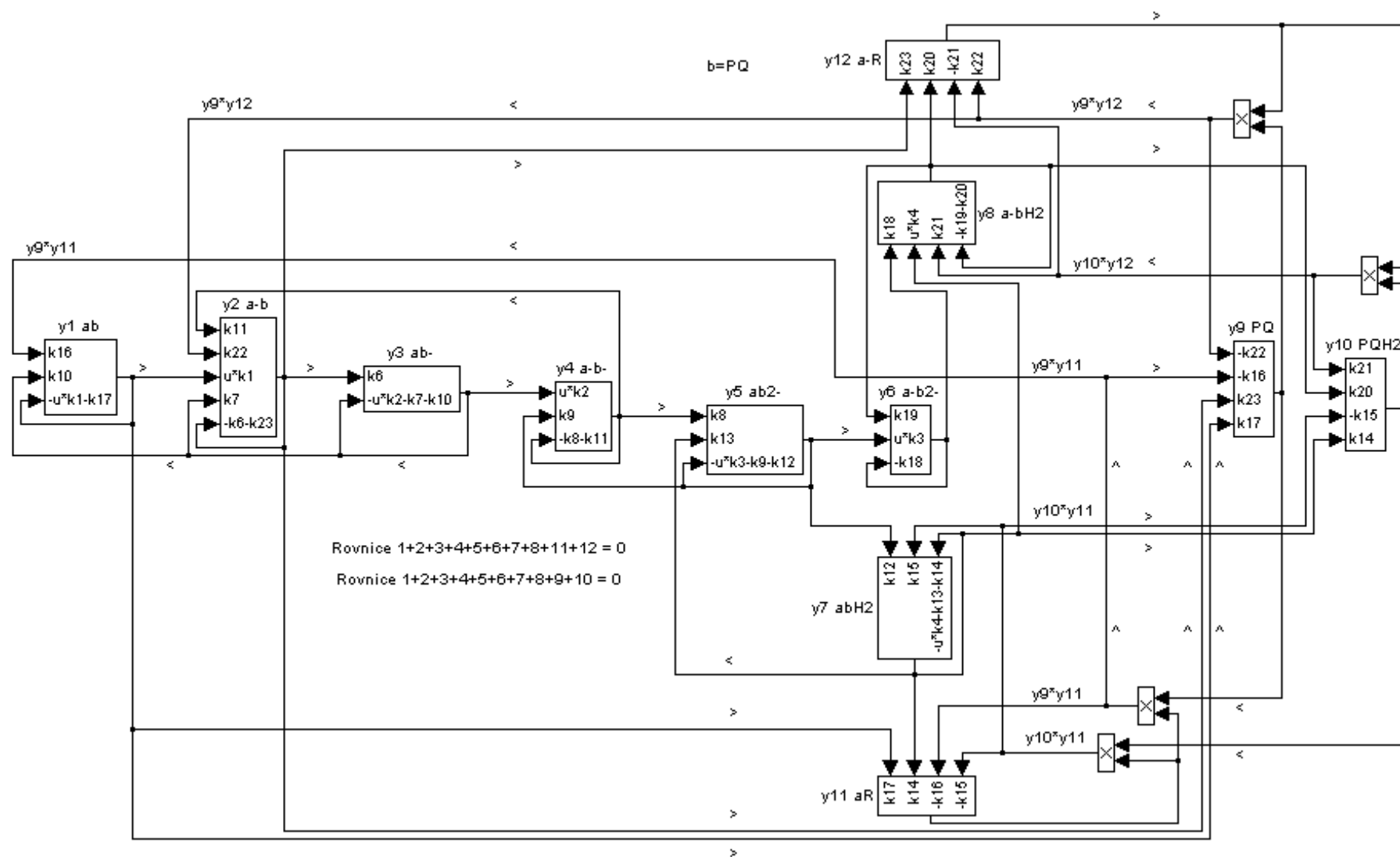
```

close all;
clear all;
clc;
global ypoc k Sigma1 x12;
kU=3; TaU=.1;
dt=.05;
load k;
k(1)=1666/3400;
k(2)=1250/3400;
k(3)=500/3400;
k(4)=20000/3400;
k(5)=1666/3400;
Amp=300; Bias=400; Freq=.29;
StepF=100;
ypoc=eye(1,11); ypoc(9)=7;
k(24)=0;
k(25)=0;
Sigma1=0;
Tmax=150;
sim('PS2pQ16', Tmax); PS2pQ16

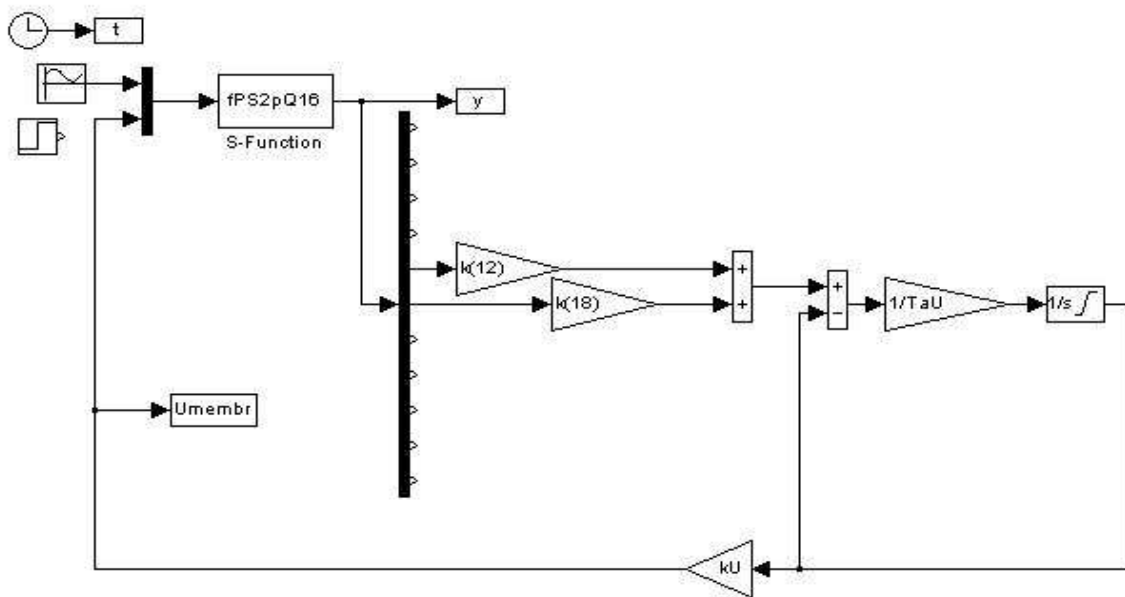
y9=ypoc(1)+ypoc(9)-y(:,1)-y(:,2)-y(:,3)-y(:,4)-y(:,5)-y(:,6)-y(:,7)-y(:,8)-y(:,10);
y12=ypoc(1)-y(:,1)-y(:,2)-y(:,3)-y(:,4)-y(:,5)-y(:,6)-y(:,7)-y(:,8)-y(:,11);

figure; plot(t,y(:,2)+y(:,4)+y(:,6)+y(:,8)+y12,'r','LineWidth',2); grid on; legend('F');
figure; plot(t,y(:,7)+y(:,8)+y(:,10),'r','LineWidth',2); legend('y(7)+y(8)+y(10)');
figure;
plot(t,y(:,1)+y(:,2)+y(:,3)+y(:,4)+y(:,5)+y(:,6)+y(:,7)+y(:,8)+y9+y(:,10),'r','LineWidth',2);
legend('y(1)+y(2)+y(3)+y(4)+y(5)+y(6)+y(7)+y(8)+y(9)+y(10)');
figure; plot(Umembr,Umembr.*Umembr,'r','LineWidth',2); legend('Umebr');
%-----

```



Obr. 28 Schéma struktury soustavy rovnic Lazárova modelu

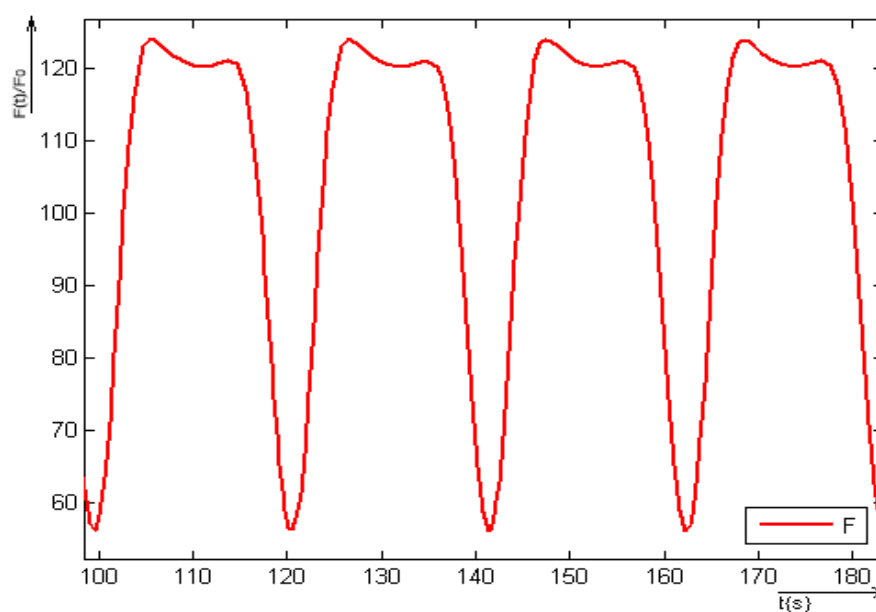


Obr. 29 Model v Matlab Simulinku

Fluorescence, což je výstupní veličina modelu je počítána jako součet stavů 2, 4, 6, 8 a 12, tedy

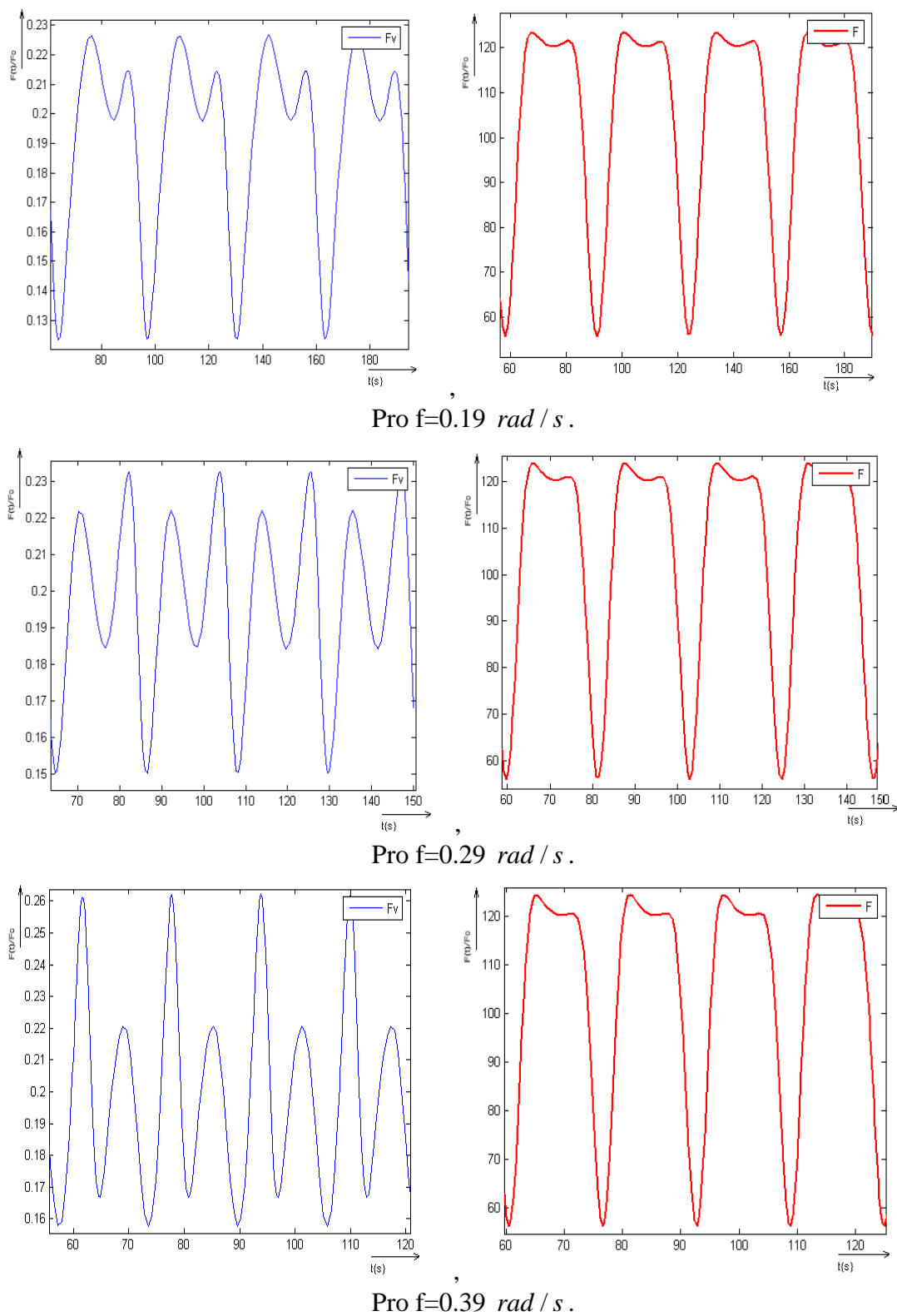
$$F = y_{(2)} + y_{(4)} + y_{(6)} + y_{(8)} + y_{(12)} \quad (18).$$

Její časový průběh při vstupním harmonickém signálu je vidět na obr. 30.



Obr. 30 Fluorescenční emise, model s napěťovou zpětnou vazbou

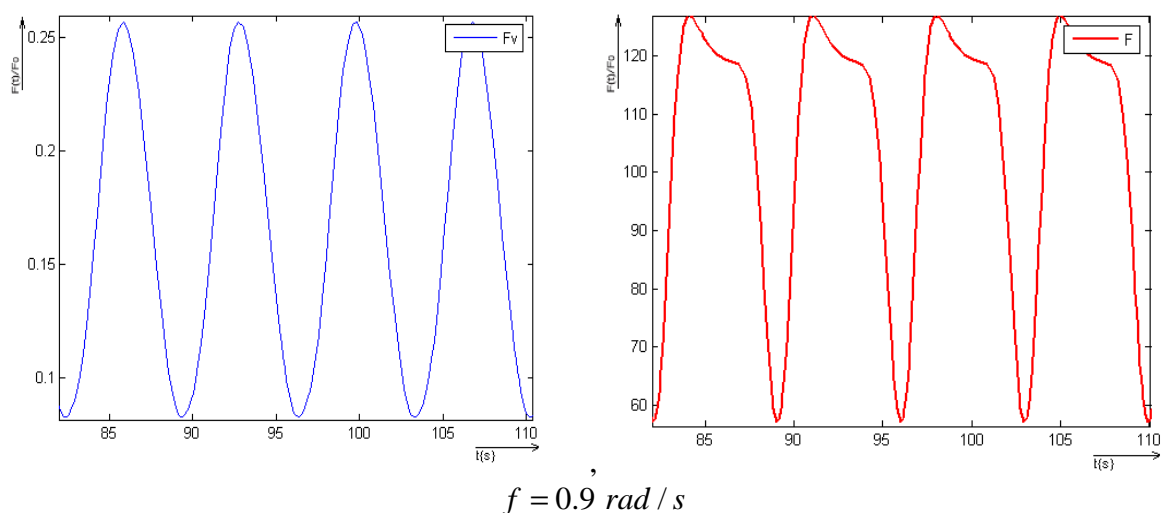
Porovnání průběhů výstupů modelu Nedbal-Lazár-Červený a modelu s napětovou zpětnou vazbou je uvedeno na obr. 31 a obr. 32.



Obr. 31 Porovnání modelů Nedbal-Lazár-Červený a jeho modifikace pro různé frekvence vstupního záření

Na obr. 31 jsou uvedeny průběhy fluorescence při třech budících kruhových frekvencích 0.19, 0.29 a 0.39 rad/s , tj. harmonickými signály s periodami 33.07 s, 21.67 s a 16.11 s. Na levé straně obr. 31 jsou uvedeny časové průběhy fluorescenční emise získané z modelu Nedbal-Lazár-Červený, na pravé straně průběhy fluorescence získané z modelu s napěťovou zpětnou vazbou.

Na obr. 32 jsou uvedeny průběhy fluorescence při podstatně vyšší budící kruhové frekvenci 0.9 rad/s , tj. harmonickým signálem s periodou 6.98 s. Na levé straně obr. 31 je opět uveden časový průběh fluorescence získané z modelu Nedbal-Lazár-Červený, na pravé je uveden výsledek z modelu s napěťovou zpětnou vazbou.



Obr. 32 Porovnání modelů při vyšší frekvenci vstupního záření

Je zřejmé, že při změně frekvence vstupujícího záření má model s napěťovou zpětnou vazbou poměrně málo proměnný průběh výstupní fluorescence, zatímco výstupní fluorescence vypočítaná z modelu Nedbal-Lazár-Červený se značně s budící frekvencí mění.

6 Závěr

V rámci diplomové práce byla podrobně prostudována a popsána fotosyntéza rostlin. Vzhledem k existenci vlastní regulace příjmu energie v rostlinách je obecně popsána i regulace a řízení v systémech. Byly prostudovány již existující modely fluorescenční emise rostlin. Starší modely zpětné vyzařování rostlin popisují hůře, protože obsahují mnohem méně parametrů než novější.

Prvním výsledkem diplomové práce je zjištění, že zavedením poměrně dlouhého dopravního zpoždění do jednoduchého modelu rostliny, viz odst. 5.2, lze získat průběhy fluorescence, které se částečně blíží k měřením provedeným na rostlinách.

Mezi složitější modely, které lépe popisují pochody fotosyntézy v rostlině, patří i model Nedbal-Lazár-Červený, který dobře popisuje fluorescenční emisi včetně nelinearit, ovšem při velmi dlouhém dopravním zpoždění v rostlině a pouze při jedné frekvenci budícího signálu.

Dalším výsledkem diplomové práce je vlastní návrh modelu fotosyntézy rostliny s napěťovou zpětnou vazbou. V tomto modelu není dopravní zpoždění. Z výsledků získaných v práci je možné konstatovat, že napěťová zpětná vazba v modelu fotosyntézy rostlin je nezbytná. Principy navrženého modelu s napěťovou zpětnou vazbou je třeba ještě konzultovat s biochemiky a v práci popsané principy tvorby zpětné vazby i experimentálně ověřovat. Měření fluorescence provedená na rostlinách vykazují větší závislost na změnách budící frekvence, než výsledky získané z modelu s napěťovou zpětnou vazbou. Model fotosyntézy s napěťovou zpětnou vazbou je zajisté třeba rozšířit o modely navazujících struktur rostliny na doposud modelované části.

V Lazárově modelu (9) je modelován fotosystém PSII a navazující systém s názvem PQ pool. V modelu Nedbal-Lazár-Červený již jednoduché modely navazujících systémů byly vytvořeny. V tomto modelu ale napěťová zpětná vazba uvažována nebyla. Na základě porovnání fluorescence získané z modelu Nedbal-Lazár-Červený s měřeními při proměnných frekvencích je možno konstatovat, že i tento model též nepopisuje dostatečně přesně chování rostlin. V práci uvedený model Nedbal-Lazár-Červený byl získán od autorů na začátku roku 2005. V průběhu roku 2005 došlo k vývoji modelu, více lze nalézt na internetové adrese <http://www.e-photosynthesis.org>, který ale v diplomové práci již není sledován. Uvedený

internetový portál byl dobudován na podzim roku 2005 a obsahuje podstatně složitější modely, např. model PSII označený D. Lazar obsahuje 1360 koeficientů.

7 Seznam použité literatury:

- [1] Lawlor D. W.: Photosynthesis: Molecular, Physiological and environmental processes. Longman Scientific, Cambridge 1993
- [2] Šetlík I., Hála J.: Biofyzika fotosyntézy. Učební text BF JČU
- [3] Noskievič P.: Modelování a identifikace systémů. Montanex a.s., 1999
- [4] Nedbal L., Březina V.: Komplex Metabolic Oscillations in Plants Forces by Harmonic Irradiance, Biophysical Journal, Volume 83, October 2002, 2180-3289
- [5] Lazár D., et al.: Mathematical Modeling of Changes in Chlorophyll Fluorescence Induction Cause by Herbicides, Jour.: Pesticide Biochemistry and Physiology 57, 1997, 200-210
- [6] Nedbal L., Matouš K., Březina V. Boško M., Janeček B.: Reverse Engineering of Plant Photosynthesis in Harmonically Modulated Light, 4-th International Conference on System Biology, St. Louis 2003
- [7] Govindjee. 1995. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.* 22:131–160.
- [8] Krause, G. H., and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:313–349.
- [9] Strasser, R. J., A. Srivastava, and Govindjee. 1995. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochem. Photobiol.* 61:32– 42.
- [10] Stirbet, A., Govindjee, B. J. Strasser, and R. J. Strasser. 1998. Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: modelling and numerical simulation. *J. Theor. Biol.* 193:131–151.
- [11] O. Kyselo. 2004. Analýza dat fluorescenční emise rostlin. TUL Liberec

- [12] J. Stráská. 2003. Fotosyntéza rostlin. VŠCHT Praha
- [13] U. Hansen, J. Kolbowski and H. Dau, Relationship between photosynthesis and plasmalemma transport, J.Exp. Botany 38 (1987) 1965-1981
- [14] L. Fridlyant, Independent changes of ATP/ADO could caouse oscillations in photosynthesis, J. Theor. Biol. 193 (1998) 739-741